

**EKSPRESI *HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR 1 ALPHA* (HIF-1 α)
JARINGAN PLASENTA BAYI BERAT BADAN LAHIR RENDAH PADA
KEHAMILAN TERINFEKSI MALARIA DAN KEHAMILAN TIDAK
TERINFEKSI MALARIA DI RSUD T.C. HILLERS, MAUMERE, NTT**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN TUGAS AKHIR	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	iii
KATA PENGANTAR	1
ABSTRAK.....	4
ABSTRACT.....	5
DAFTAR ISI	6
DAFTAR BAGAN	9
DAFTAR TABEL	10
DAFTAR GAMBAR	11
DAFTAR GRAFIK.....	12
DAFTAR LAMPIRAN	13
DAFTAR SINGKATAN.....	14
BAB 1 PENDAHULUAN	16
1.1. Latar Belakang.....	16
1.2. Rumusan Masalah	19
1.3. Tujuan Penelitian.....	19
1.3.1. Tujuan Umum.....	19
1.3.2. Tujuan Khusus	19
1.4. Manfaat Penelitian.....	20
1.4.1. Manfaat Akademis	20
1.4.2. Manfaat Praktis	20
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	21
2.1. Plasenta.....	21
2.1.1. Anatomi dan Histologi Plasenta.....	22
2.1.2. Fungsi Plasenta	25
2.2. Pertumbuhan Janin Terhambat (PJT).....	25
2.2.1. Definisi.....	25
2.2.2. Tipe Pertumbuhan Janin Terhambat	26
2.2.3. Patofisiologi PJT	27
2.2.3.1 Uteroplasental	27
2.2.3.2 Maternal.....	27

2.3. Malaria dalam Kehamilan	28
2.3.1. Pengertian Malaria dalam Kehamilan dan Prevalensi	28
2.3.2. Epidemiologi.....	29
2.3.3. Siklus Hidup <i>Plasmodium vivax</i>	29
2.3.4. Patofisiologi dan Patogenesis Malaria spesies <i>Plasmodium vivax</i>	31
2.4. <i>Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha</i> (HIF-1 α).....	33
2.4.1. Definisi.....	33
2.4.2. Fungsi.....	33
2.4.3. Mekanisme Kerja	34
2.4.4. Lokalisasi di dalam tubuh.....	35
2.4.5. Ekspresi HIF-1 α di Plasenta	36
2.4.6. Ekspresi HIF-1 α di Kaitannya dengan Malaria Secara Umum dan Malaria Plasenta	39
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	42
3.1. Kerangka Konsep.....	42
3.2. Hipotesis Penelitian.....	43
BAB 4 METODE PENELITIAN	44
4.1. Rancangan Penelitian	44
4.2. Populasi dan Sampel Penelitian	44
4.2.1. Populasi Penelitian	44
4.2.2. Sampel Penelitian.....	44
4.2.3. Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	45
4.2.4. Prosedur Pengambilan Sampel	45
4.3. Variabel Penelitian	45
4.3.1. Variabel Bebas	45
4.3.2. Variabel Tergantung	46
4.3.3. Variabel Perancu	46
4.4. Tempat dan Waktu Penelitian	46
4.5. Metode Penelitian.....	46
4.6. Alat dan Bahan Penelitian.....	47
4.6.1. Parafin blok dan Pemetongan Beku.....	47
4.6.2. Deparafinasi.....	47
4.6.3. Proses Imunohistokimia	47

4.6.4. Perhitungan terhadap Pewarnaan Immunohistokimia HIF-1 α	47
4.7. Definisi/Istilah Operasional.....	48
4.8. Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data.....	49
4.8.1. Alur Penelitian.....	49
4.8.2. Pengamatan Preparat Jaringan	50
4.8.3. Pembuatan Parafin Blok.....	50
4.8.4. Proses Deparafinasi	50
4.8.5. Proses Immunohistokimia	50
4.8.6. Metode Penghitungan terhadap Hasil Pewarnaan Immunohistokimia..	51
4.8. Analisis Data.....	53
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....	54
5.1 Rancangan Penelitian	54
5.1.1 BBLR.....	55
5.1.2 Infeksi Malaria.....	55
5.1.3 Ekspresi HIF-1 α	56
5.2 Analisis Data.....	57
5.2.1 Uji Normalitas	57
5.2.2 Uji Perbandingan	58
BAB 6 PEMBAHASAN	60
BAB 7 PENUTUP	64
7.1. Kesimpulan.....	64
7.2. Saran	64
DAFTAR PUSTAKA.....	66
LAMPIRAN	75

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**EKSPRESI *HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR 1 ALPHA* (HIF-1 α) JARINGAN
PLASENTA BAYI BERAT BADAN LAHIR RENDAH PADA KEHAMILAN
TERINFEKSI MALARIA DAN KEHAMILAN TIDAK TERINFEKSI MALARIA
DI RSUD T.C. HILLERS, MAUMERE, NTT**

Oleh :

Isnaini Yuliana Wardani
NIM. 155070101111006

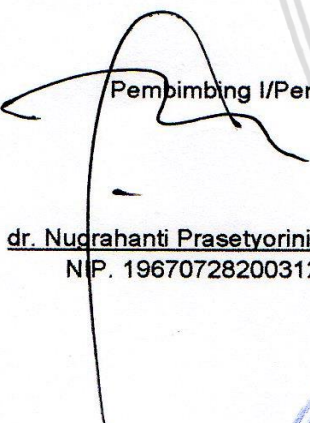
Telah diuji pada
Hari : Senin
Tanggal : 21 Januari 2019
Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I



Dr. dr. Wisnu Barlianto, M.Si.Med. Sp.A(K)
NIP. 197307262005011008


Pembimbing I/Penguji II,

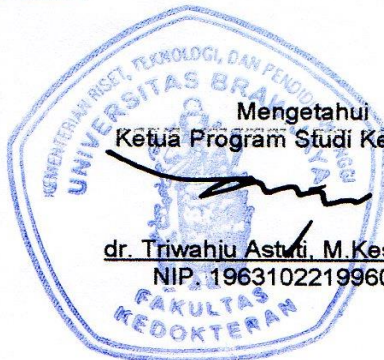

dr. Nugrahanti Prasetyorini, Sp. OG(K)
NIP. 196707282003122001

Pembimbing II/Penguji III,


Wike Astrid Cahayani, S.Ked, M.Biomed
NIP. 2016078912052001

Mengetahui
Ketua Program Studi Kedokteran


dr. Triwahju Astuti, M.Kes. Sp.P(K)
NIP. 19631022199601200



ABSTRAK

Wardani, Isnaini Y. 2018. **Ekspresi *Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha* (HIF-1 α) Jaringan Plasenta Bayi Berat Badan Lahir Rendah pada Kehamilan Terinfeksi Malaria dan Kehamilan Tidak Terinfeksi Malaria Di RSUD T.C. Hillers, Maumere, NTT.** Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Nugrahanti Prasetyorini, SpOG (K) (2) Wike Astrid Cahayani, S.Ked., M.Biomed.

Pertumbuhan janin terhambat (PJT) merupakan kelainan pada bayi yang mengganggu pertumbuhan, dengan manifestasi berupa bayi berat badan lahir rendah (BBLR), yaitu kurang dari normal <10 persentil atau di bawah 2500 gram. Faktor risiko terjadinya PJT dapat berasal dari faktor ibu, plasenta maupun janin. Infeksi malaria plasenta merupakan salah satu infeksi yang terjadi pada masa kehamilan, di mana salah satu penyebab utamanya adalah *Plasmodium vivax*. Provinsi Nusa Tenggara Timur merupakan salah satu daerah endemis *Plasmodium vivax*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta bayi BBLR pada kehamilan yang terinfeksi malaria dan kehamilan yang tidak terinfeksi malaria di RSUD T.C. Hillers, Maumere, NTT. Dari hasil pemeriksaan PCR pada ibu hamil di RSUD T.C. Hillers antara bulan Oktober 2017 – April 2018, diperoleh 13 sampel positif *Plasmodium vivax* dan 12 sampel negatif *Plasmodium vivax*. Hasil penelitian ini ditemukan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada rata-rata ekspresi HIF-1 α jaringan plasenta bayi BBLR pada kehamilan yang terinfeksi malaria (4.47 ± 3.26) dan tidak terinfeksi malaria (3.00 ± 1.65) di RSUD T.C. Hillers, Maumere, NTT, dengan nilai $p=0,173$.

Kata kunci: Ekspresi HIF-1 α , Hipoksia, Jaringan Plasenta, BBLR, Malaria Plasenta, NTT

ABSTRACT

Wardani, Isnaini Y. 2018. **Expression of Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha (HIF-1 α) of Low Birth Weight Infant's Placenta on Malaria Placental dan Non-Malaria Placental in RSUD T.C. Hillers, Maumere, NTT**. Final Project, Medical Education Study Program, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Advisors: (1) dr. Nugrahanti Prasetyorini, SpOG (K) (2) Wike Astrid Cahayani, S.Ked., M.Biomed.

Intrauterine Growth Restriction (IUGR) is a disorder in infants that disrupts growth, which manifest in the form of low birth weight babies (LBW), which is less than normal <10 percentiles or below 2500 grams. Risk factors for IUGR origins from maternal, placental or fetal factors. Placental malaria infection is the infections that occurs during pregnancy, where one of the main cause is Plasmodium vivax. East Nusa Tenggara Province is one of the endemic areas of Plasmodium vivax. Therefore, this study aims to determine the comparison of HIF-1 α expression in placental tissue of LBW infants in pregnancies infected with malaria and non-malaria-infected pregnancies in the T.C Hillers Hospital, Maumere, NTT. From the results of PCR examination in pregnant women in RSUD T.C. Hillers between October 2017 - April 2018, 13 positive samples of Plasmodium vivax and 12 negative samples of Plasmodium vivax were obtained. The results of this study found that there were no significant differences in the mean expression of HIF-1 α placenta tissue in LBW infants in pregnancies infected with malaria (4.47 ± 3.26) and not infected with malaria (3.00 ± 1.65) in RSUD T.C. Hillers, Maumere, NTT, with p value= 0.173.

Keywords: Expression of HIF-1 α , Hypoxia, Placental Tissue, LBW, Placenta Malaria, NTT

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pertumbuhan janin terhambat (PJT) atau *Intrauterine Growth Restriction* (IUGR) adalah kondisi yang ditandai dengan pertumbuhan janin kurang dari normal atau <10th persentil pada usia kehamilan (Longo *et al.* 2013). Pada pemeriksaan ultrasonografi (USG) didapatkan penurunan kecepatan pertumbuhan pada akhir masa kehamilan atau ketidaknormalan indeks doppler pada arteria umbilikalis atau arteria cerebri media (Sherin dan Alison, 2016).

Pertumbuhan janin terhambat (PJT) dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain faktor janin, faktor ibu, dan faktor dari plasenta (Brodsky dan Christou, 2004). Karena berfungsi sebagai media pertukaran nutrisi dan oksigen antara ibu dan janin. Oleh karena itu, hal-hal yang dapat mempengaruhi kondisi fisiologis plasenta, misal karena infeksi malaria, inflamasi, deposisi fibrin intervillous dan infark, yang dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan janin (Walter *et al.* 1982).

Pertumbuhan janin terhambat (PJT) terjadi pada sekitar 5-15% dari semua kehamilan di Amerika Serikat dan Eropa, namun sangat bervariasi persentasenya di negara-negara berkembang, yaitu 30-55% di Asia Tengah dan Selatan, 15-25% di Afrika, dan 10-20% di Amerika Latin (Saleem *et al.* 2011). Asia-Afrika menduduki persentase tertinggi untuk PJT di mana kondisi ini sering dihubungkan dengan letak geografis Asia-Afrika yang dikenal sebagai daerah

endemis penyakit tropis salah satunya di Sub-Sahara Afrika, sekitar lebih dari 30 juta wanita hamil di Afrika diperkirakan terinfeksi malaria selama masa kehamilan. Meskipun tanpa gejala, infeksi malaria meningkatkan risiko PJT dan kelahiran prematur, terutama pada primigravida (Guyatt dan Snow, 2004). Dalam hal ini, malaria merupakan salah satu penyakit infeksi yang endemis di Indonesia bagian timur yang dapat menyebabkan PJT (Sullivan *et al.* 1999). Namun hal tersebut bukan menjadi faktor utama penyebab PJT, karena tidak semua ibu hamil di daerah endemis malaria terinfeksi malaria selama masa kehamilan, kondisi ini tidak lepas dari faktor imunitas (Guyatt dan Snow, 2004).

Malaria adalah infeksi yang disebabkan oleh parasit uniseluler dari genus *Plasmodium*. Parasit tersebut bersifat obligat intaseluler yang mampu menginfeksi dan bereplikasi di sel hepatosit dan eritrosit. Terdapat lima spesies *Plasmodium* yang dapat menginfeksi manusia, yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax*, dan *Plasmodium knowlesi* (Spinello *et al.* 2012). Dilaporkan bahwa setiap tahunnya didapatkan lebih dari 500.000 orang meninggal disebabkan karena malaria, di mana 90% dari kasus tersebut disebabkan infeksi *Plasmodium falciparum* (Hay *et al.* 2009).

Malaria plasenta dapat dikarakteristikan dengan squestisasi eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium falciparum* dan infiltrasi sel-sel imun di dalam ruang-ruang intervilli plasenta (Fairhurst dan Wellem, 2015). Menurut data dari Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Tahun 2013, dilaporkan 1,9% kelompok ibu hamil berpotensi tinggi terinfeksi *Plasmodium falciparum* di Indonesia. Adapun infeksi malaria kehamilan terbanyak kedua disebabkan oleh *Plasmodium vivax* (Rijken *et al.* 2012). Infeksi malaria yang disebabkan oleh *Plasmodium vivax* juga beresiko tinggi di kawasan timur Indonesia, terutama Nusa Tenggara Timur,

Maluku, dan Papua. Sebagian besar Kalimantan dan Sumatra juga termasuk wilayah yang endemis malaria *vivax*, tetapi tingkat endemisitasnya jauh lebih rendah dibandingkan sebagian besar kawasan timur Indonesia (Elyazar *et al.* 2012).

Patogenesis malaria plasenta oleh *Plasmodium vivax* diawali dengan invasi *Plasmodium vivax* melalui gigitan nyamuk dari *Anopheles* betina ke dalam tubuh inang (manusia) mengeluarkan sporozoit dan bersirkulasi menuju peredaran darah. Selanjutnya, parasit muda di hepar akan matang dan mengubah bentuknya dari *ring* menjadi bentuk trofozoit. Sel darah merah yang terinfeksi akan mengalami sitoaderensi pada sel endotel pembuluh darah berbagai organ (Autino *et al.* 2012). Sitoaderensi pada mikrovaskuler akan mengakibatkan obstruksi pada pembuluh darah sehingga tidak dapat meneruskan suplai O₂ ke jaringan, di mana kondisi ini disebut sebagai hipoksia (Autino *et al.* 2012)

Hipoksia jaringan memicu pengeluaran mediator inflamasi dan angiogenesis, serta peningkatan ekspresi mediator regulasi homeostasis yaitu *Hypoxia Inducible Factor 1 alpha* (HIF-1 α). Protein HIF-1 α juga merupakan protein pendana terjadinya hipoksia jaringan (Eltzschig dan Carmeliet, 2014). Penelitian Boeuf *et al* (2008), menunjukkan adanya peningkatan HIF-1 α akibat respon hipoksia jaringan plasenta yang terinfeksi malaria *Plasmodium falciparum* selama masa kehamilan. Di Indonesia penelitian mengenai HIF-1 α pada kehamilan yang terinfeksi malaria masih sedikit dijumpai terutama yang diakibatkan oleh *Plasmodium vivax*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekspresi protein HIF-1 α pada jaringan plasenta terkait status infeksi malaria pada ibu hamil.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana perbandingan antara ekspresi HIF-1 α jaringan plasenta bayi berat badan lahir rendah (BBLR) pada ibu hamil dengan infeksi malaria dan ibu hamil tanpa infeksi malaria.

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dijelaskan, maka tujuan dari penelitian ini dibagi menjadi tujuan umum dan tujuan khusus :

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui perbandingan antara ekspresi HIF-1 α jaringan plasenta bayi BBLR pada kehamilan terinfeksi malaria dan kehamilan tidak terinfeksi malaria.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Membuktikan adanya ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta BBLR yang terinfeksi malaria dalam kehamilan dan tidak terinfeksi malaria dalam kehamilan.
- b. Membuktikan lokasi ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta BBLR yang terinfeksi malaria dalam kehamilan dan tidak terinfeksi malaria dalam kehamilan.
- c. Membuktikan ekspresi HIF-1 α jaringan plasenta pada kehamilan dengan BBLR yang terinfeksi malaria dalam kehamilan lebih tinggi dari yang tidak terinfeksi malaria.

1.4 Manfaat Penelitian

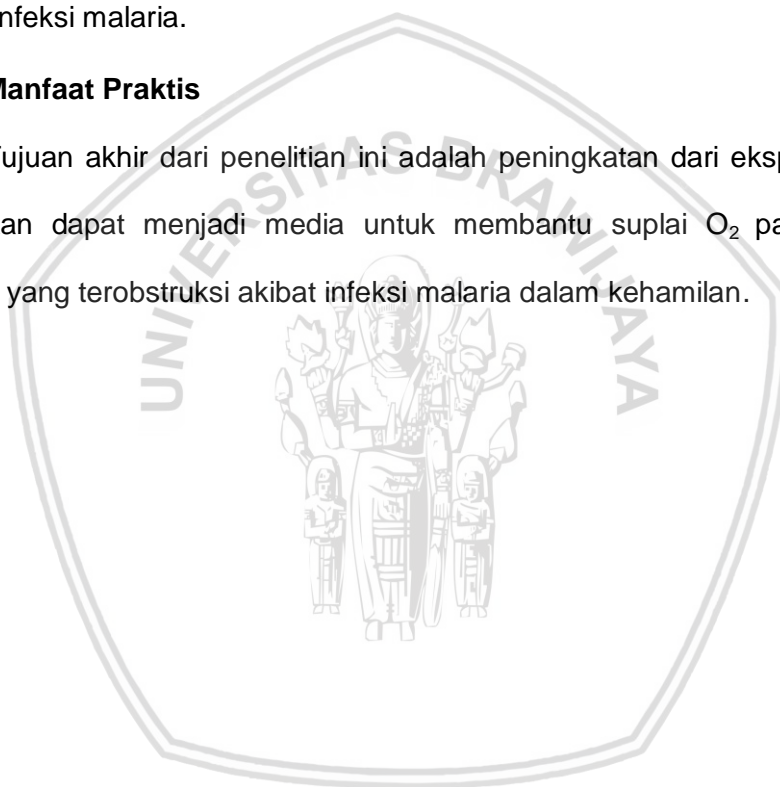
Berdasarkan tujuan penelitian yang telah dijelaskan, maka dapat diketahui manfaat dari penelitian ini yaitu :

1.4.1 Manfaat Akademis

Menambah khasanah teori mengenai ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta bayi BBLR dengan kehamilan terinfeksi malaria dan kehamilan yang tidak terinfeksi malaria.

1.4.2 Manfaat Praktis

Tujuan akhir dari penelitian ini adalah peningkatan dari ekspresi HIF-1 α diharapkan dapat menjadi media untuk membantu suplai O₂ pada jaringan plasenta yang terobstruksi akibat infeksi malaria dalam kehamilan.

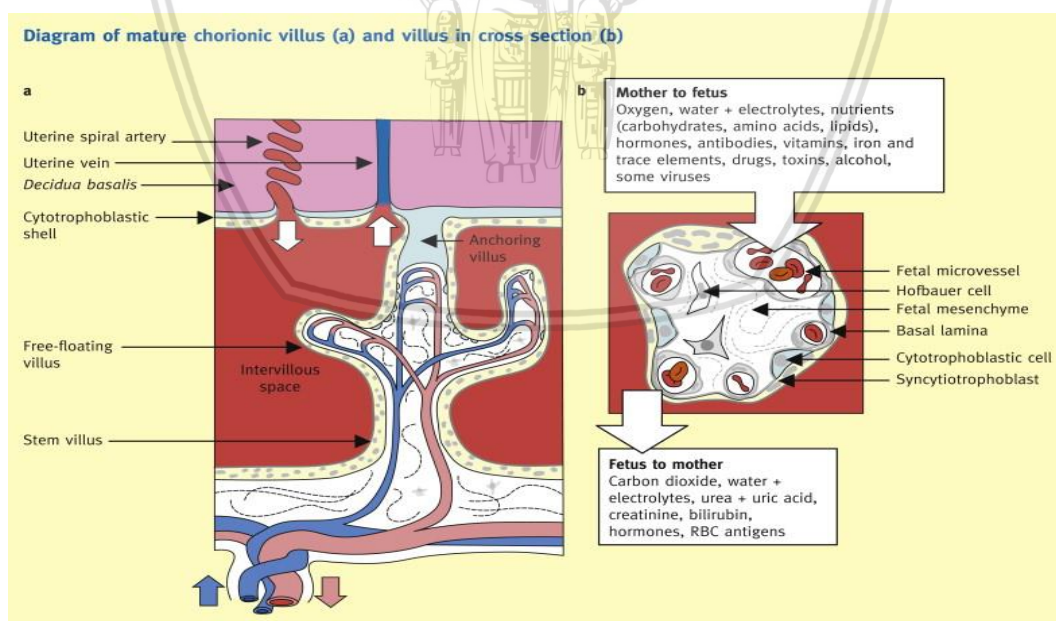


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Plasenta

Plasenta adalah bagian dari janin yang berfungsi dalam proses respirasi, ekskresi dan pencernaan janin, memegang peran penting dalam sintesis dan regulasi hormone, media transportasi yang menjadi penghubung ibu dan janin, organ vaskuler sementara yang sekaligus sebagai tempat pertukaran nutrisi dan gas darah antara sirkulasi ibu dan janin (Witkin, 2004). Plasenta terdiri dari dua komponen pertukaran yang berbeda yaitu janin plasenta (*feto-plasenta*) dan ibu (Eriksson *et al.* 2010).

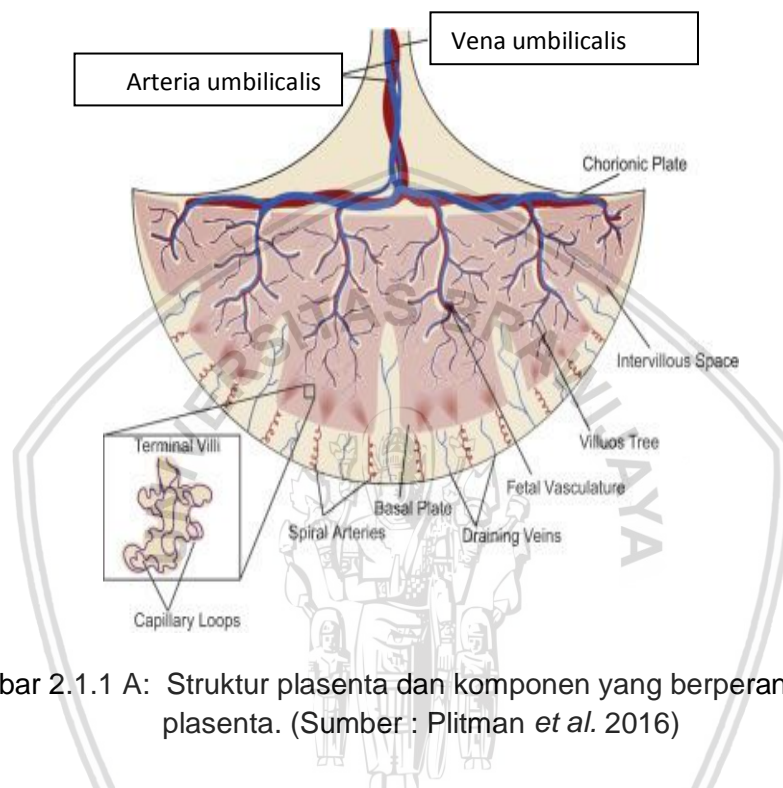


Gambar 2.1 : Pematangan vilus dan aliran darah (a) zat yang disalurkan dari ibu ke bayi maupun dari bayi ke ibu (b). (Sumber : Donnelly dan Campling. 2014)

Pada gambar di atas dijelaskan mengenai jalannya aliran darah pada plasenta, selain itu juga dijelaskan mengenai zat yang disalurkan baik dari ibu

menuju janin maupun dari janin kepada ibu. Untuk zat yang disalurkan dari ibu ke janin meliputi oksigen, air dan elektrolit, nutrisi (seperti karbohidrat, asam amino dan lemak), hormon, antibodi, vitamin, zat besi, dan *trace element*, obat, toxin, alkohol dan beberapa virus. Sedangkan zat yang disalurkan dari bayi kepada ibu meliputi karbon dioksida, air dan elektrolit, *uric acid*, kreatinin, bilirubin, hormon, antigen darah merah (Donnelly dan Campling. 2014).

2.1.1 Anatomi dan Histologi Plasenta

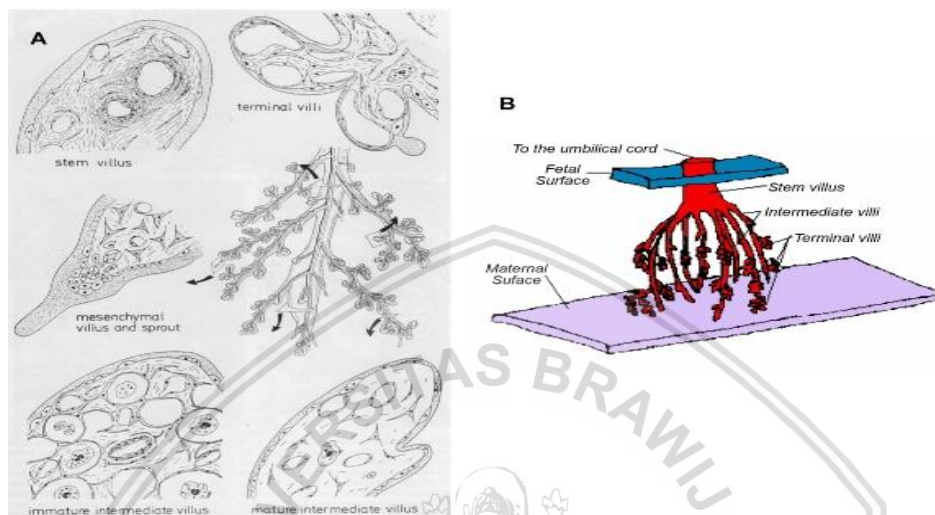


Gambar 2.1.1 A: Struktur plasenta dan komponen yang berperan di dalam plasenta. (Sumber : Plitman *et al.* 2016)

Komponen penampang plasenta manusia meliputi *vili terminalis*, *arteria spiralis*, *draining veins*, *fetal vasculature*, *villuos tree*, *intervillous space*. Dari komponen tersebut membantu dalam mengalirkan darah antara ibu dan janin. Darah janin melapisi plasenta dari arteri umbilikalis dan kembali beroksigenasi melalui vena umbilikalis. Darah ibu mencapai plasenta dari arteri spiral, menembus melalui vili dan kembali mengalami penurunan oksigen pada pembuluh darah (Plitman *et al.* 2016).

Tahap perkembangan dari plasenta dapat dilihat melalui struktur histologi, struktur vilus, percabangan pembuluh, dan tipe komponen sel pembuluh. Vilus merupakan komponen utama dalam plasenta yang memiliki struktur khas

berbentuk *tree* (pohon), terdapat lima tipe dari vilus yaitu *stem villi*, *immature villi*, *intermediate villi*, *mature intermediate villi*, *terminal villi*, *Mesenchymal villi* (Wang dan Zhao, 2010).



Gambar 2.1.1 B : Struktur cabang vili dan cabang pembuluh
(Sumber :Wang dan Zhao. 2010)

Dari gambar di atas dijelaskan terdapat berbagai bentuk cabang vili dan cabang pembuluh dari kotiledon, gambar A menunjukkan jenis vili plasenta pada plasenta manusia, gambar B menunjukkan pohon vili yang terhubung menuju permukaan janin (lempeng korionik) dan permukaan ibu (lempeng basal). Dinamakan pohon vili karena strukturnya yang menyerupai pohon dan struktur dasarnya terbentuk pada usia awal gestasi. Dari yang semula berbentuk batang (*Trunk*) menyelam ke plasenta dari pembuluh permukaan janin, batang vili kemudian membelah menjadi cabang besar menjadi vili perantara, dengan struktur yang terlihat pengumpulan nutrisi di ujungnya, diikuti oleh vili terminal. Pada trisemester kedua dan ketiga vili terminal akan terus menerus menjadi matang sehingga terjadi peningkatan kuantitas dan kualitas pertukaran oksigen dan nutrisi yang melintasi vili terminal antara darah ibu dan janin, sebagai respon untuk mendukung pertumbuhan janin (Wang dan Zhao, 2010)

Plasenta villus terdiri dari tiga lapisan yaitu sinsitiotrofoblas, sel mesensimal dan fibroblas yang berada di dalam stroma inti villus antara trofoblas dan pembuluh janin, serta sel vaskular janin yang meliputi sel otot polos vaskular, sel perivaskular (*pericyte*) dan sel endotel, dengan jenis sel yang berbeda-beda pada masing-masing lapisan (Wang dan Zhao, 2010).

Trofoblas adalah sel yang membentuk lapisan terluar dari blastosit yang menyediakan nutrisi kepada embrio dan berkembang menjadi sebagian besar plasenta, terbentuk pada tahap awal kehamilan dan merupakan sel pertama untuk membedakan dari sel telur yang dibuahi. Vilus trofoblas terdiri dari dua populasi sel yaitu sitotrofoblas yang tidak berdiferensiasi dan sinsitotrofoblas yang berdiferensiasi sepenuhnya. Sinsitotrofoblas adalah sel epitel yang berkelanjutan dan khusus menutupi seluruh vili dan bersentuhan langsung dengan darah ibu. Luas permukaan sinsitotrofoblas sekitar 5 meter persegi pada usia gestasi 28 minggu dan mencapai hingga 11-12 meter persegi (Ellery *et al.* 2009).

Pada lapisan stroma vili plasenta terdapat sel *Hofbauer* yang berfungsi sebagai makrofag. Sel-sel ini berasal dari mesenkim dan berkembang selama trisemester pertama dan kedua pada jaringan vili plasenta. Sel *Hofbauer* yang merupakan sel *Antigen Presenting Cell* (APC) di plasenta, memegang peran penting dalam proses pertahanan inang, selain itu juga berkontribusi dalam diferensiasi trofoblas dan angiogenesis dengan menghasilkan berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin, meskipun fungsi dari sel *Hofbauer* dalam proses perkembangan pembuluh darah plasenta tidak diketahui secara jelas, diperkirakan sel *Hofbauer* juga berperan dalam mengatur vili mesensimal dan vili yang tumbuh selama perkembangan vaskulogenik dan angiogenik pembuluh darah plasenta manusia, mengekspresikan dan menghasilkan faktor angiogenik seperti *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *Fibroblast Growth Factor* (FGF), vaskulotropin, dan faktor proliferasi vaskuler di sel endotel (Khan *et al.* 2000). *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) merupakan mitogen pada sel endotel yang dapat secara spesifik menginduksi proliferasi endotel, migrasi sel,

dan menghambat apoptosis. Protein *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) *in vivo* menginduksi angiogenesis dan memainkan peran sentral dalam regulasi vaskulogenik (Demir *et al.* 2004).

Sel perisit merupakan sel perivaskuler yang terletak mengelilingi endothelium kapiler dan venula, berkemampuan untuk mendukung sel endotel, menjaga stabilitas pembuluh dan integritas mikrovaskuler dengan membatasi migrasi dan proliferasi sel endotel (Sims *et al.* 2000). Sel perisit juga mempengaruhi fungsi pembuluh darah pada mikrovaskuler dan proses permeabilitas zat terlarut (Wang dan Zhao, 2010).

2.1.2 Fungsi Plasenta

Fungsi utama dari plasenta antara lain transport O_2 dan nutrisi untuk janin, serta mengembalikan transfer CO_2 , urea, dan sisa katabolik yang lain ke ibu, dengan mekanisme yang berbeda-beda setiap substansi tersebut. Umumnya substansi penting seperti O_2 , CO_2 , air dan sodium, akan disalurkan dengan cepat melalui difusi. Sedangkan untuk substansi yang berperan dalam sistesis pembentukan jaringan seperti asam amino, enzim ko-faktor dan vitamin, akan disalurkan melalui mekanisme transport aktif, yang diperlukan untuk pertumbuhan janin, sedangkan protein seperti immunoglobulin IgG memerlukan pinositosis (metode transport molekul yang berukuran besar untuk menembus membran) dari janin (Keman, 2012).

2.2 Pertumbuhan Janin Terhambat (PJT)

2.2.1 Definisi

Pertumbuhan janin terhambat (PJT) adalah terhambatnya pertumbuhan janin yang etiologinya dapat diklasifikasikan berdasarkan faktor ibu, janin,

maupun plasenta. Pada praktik klinis karakteristik IUGR dapat dideteksi berdasarkan berat badan lahir kurang dari 2500 gram atau berat janin $<10^{\text{th}}$ persentil; pemeriksaan lingkaran perut ibu $<2,5^{\text{th}}$ persentil, dan dengan pemeriksaan USG pada pertumbuhan janin ditemukan perubahan indeks pemeriksaan *doppler* dengan bentuk gelombang arteri umbilikal abnormal atau penurunan denyut arteri serebral tengah yang menunjukkan adanya kelainan pada janin (Alberry dan Soothill, 2007). Akibatnya, bayi PJT akan mempunyai risiko lebih tinggi lahir prematur, asfiksia, perubahan termoregulasi, hipoglikemia, disfungsi jantung, dan infeksi; di mana kondisi ini dapat mempengaruhi kualitas hidup bayi pada fase selanjutnya serta dapat menyebabkan gangguan perkembangan otak pada masa kanak-kanak, risiko penyakit metabolik, dan kardiovaskuler pada masa dewasa (Longo *et al.* 2013).

2.2.2 Tipe Pertumbuhan Janin Terhambat (PJT)

Berdasarkan karakteristiknya PJT dibagi menjadi 2 yaitu simetris dan asimetris. Perbedaan antara simetris dan asimetris dapat dilihat pada table 2.2.2.

Karakteristik	PJT Simetris	PJT Asimetris
Period insult	Awal gestasi	Akhir gestasi
Insiden dari total kasus PJT	20%-30%	70%-80%
Etiologi	Kelainan genetik dan infeksi dari dalam fetus	Kelainan pada uteroplasental
Lingkar kepala, lingkaran perut, diameter biparietal dan panjang femur	Semua proposinya berkurang	Lingkar perut menurun, sedangkan diameter biparietal, lingkaran kepala, dan panjang femur normal
Jumlah sel	Berkurang	Normal
Ukuran sel	Normal	Berkurang
Ponderal indeks	Normal (lebih dari 2)	Berkurang (kurang dari 2)

Antropometri berat, panjang dan lingkar kepala pascanatal	Berkurang untuk semua parameter	Berkurang pada berat badan, panjang dan lingkar kepala normal
Perbedaan antara lingkar kepala dan dada	Kurang dari 3 cm	Lebih dari 3 cm
Kondisi gizi	Kurang jelas	Lebih jelas
Prognosis	Buruk	Bagus

Gambar 2.2.2 : Perbedaan PJT simetris dan PJT asimetris
(Sumber : Sharma *et al.* 2016)

2.2.3 Patofisiologi PJT

Berdasarkan patofisiologi terjadinya PJT dibedakan menjadi dua yaitu secara maternal dan uteroplasental (Villar *et al.* 2013). Penyebab terbanyak yang mengakibatkan pertumbuhan janin terhambat adalah pada kegagalan fungsi saluran plasenta yang tidak mampu secara optimal menyuplai nutrisi dan oksigen untuk mendukung pertumbuhan aerobik pada janin, kondisi ini akan menyingkirkan dugaan IUGR simetris, anomali pada kromosom janin, anomali struktural dan infeksi janin. Oleh karena maladaptasi vaskuler plasenta invasi trofoblastik endovaskuler, sehingga terjadi peningkatan resistensi vaskuler dan penurunan aliran darah plasenta di kompartemen koriodesidual (Krishna dan Bhalerao, 2011). Akibatnya janin akan tumbuh dengan ukuran kecil atau disebut dengan *small for gestation age* (SGA) (Villar *et al.* 2013).

2.2.3.1 Uteroplasental

Uteroplasental artinya terjadinya PJT disebabkan karena adanya kelainan atau kerusakan pada plasenta (Eriksson *et al.* 2010).

2.2.3.2 Maternal

Maternal artinya terjadinya PJT tidak disebabkan karena adanya kelainan pada plasenta, melainkan disebabkan pada kondisi ibu maupun janin yang

dikdanungnya. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa ada hubungan antara risiko hipertensi dan penyakit jantung dan berat plasenta, diameter dan luas penampang (Eriksson *et al.* 2010).

2.3 Malaria dalam Kehamilan

2.3.1 Pengertian Malaria dalam Kehamilan dan Prevalensi

Infeksi malaria dalam kehamilan adalah infeksi yang disebabkan oleh golongan *Plasmodium* yang terjadi selama masa kehamilan, yang seringkali disebut juga dengan malaria plasenta karena infeksi parasit berakumulasi di dalam plasenta. Infeksi yang disebabkan oleh *Plasmodium vivax* dapat memberikan kontribusi terhadap peningkatan mortalitas dan morbiditas ibu dan janin, peningkatan angka keguguran, kematian janin intrauterin, persalinan prematur bayi lahir dengan berat badan rendah, dan kematian bayi (Schantz dan Nour, 2009).

Berdasarkan data dari *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2009, terdapat 25 juta wanita hamil yang pada tahun tersebut diketahui berisiko malaria, lebih dari 10.000 kematian ibu dan 200.000 bayi disebabkan karena infeksi malaria (WHO, 2009).

Selama beberapa tahun malaria telah dikenal sebagai penyakit mematikan yang disebabkan oleh infeksi parasit. Pada laporan dunia tahun 2015, diperkirakan 438.000 kematian akibat malaria, dan sekitar 69% (306.000) adalah anak-anak di bawah usia 5 tahun. Dari semua kematian akibat malaria, 90% dilaporkan berasal dari wilayah Afrika dan sisanya berasal dari kawasan Asia Tenggara dan kawasan Mediterania Timur (WHO, 2015).

2.3.2 Epidemiologi

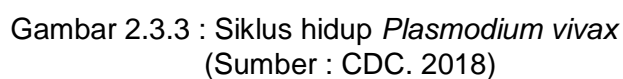
Malaria menyebabkan risiko yang sangat tinggi pada wanita hamil dan janin. Di daerah endemik malaria, diperkirakan bahwa setidaknya 25% ibu hamil terinfeksi malaria, yang menyumbang lebih dari 20% dari semua kematian ibu. Malaria menyumbang lebih dari 10.000 kematian neonatal ibu dan 200.000 per tahun secara global (Schantz dan Nour, 2009).

Di Afrika, diketahui bahwa malaria merupakan penyebab utama dari anemia berat pada wanita Afrika yang hamil, dan dengan mekanisme ini malaria menyebabkan sekitar 10.000 kematian ibu setiap tahun (Guyatt dan Snow, 2001).

Di Indonesia, infeksi malaria dalam kehamilan akibat infeksi *Plasmodium vivax* banyak terjadi di kawasan timur Indonesia, terutama Nusa Tenggara Timur, Maluku, dan Papua. Sebagian besar Kalimantan dan Sumatra juga memiliki wilayah penularan yang besar, tetapi tingkat endemisitasnya jauh lebih rendah daripada di sebagian besar kawasan timur Indonesia (Elyazar *et al.* 2012).

2.3.3 Siklus hidup *Plasmodium vivax*

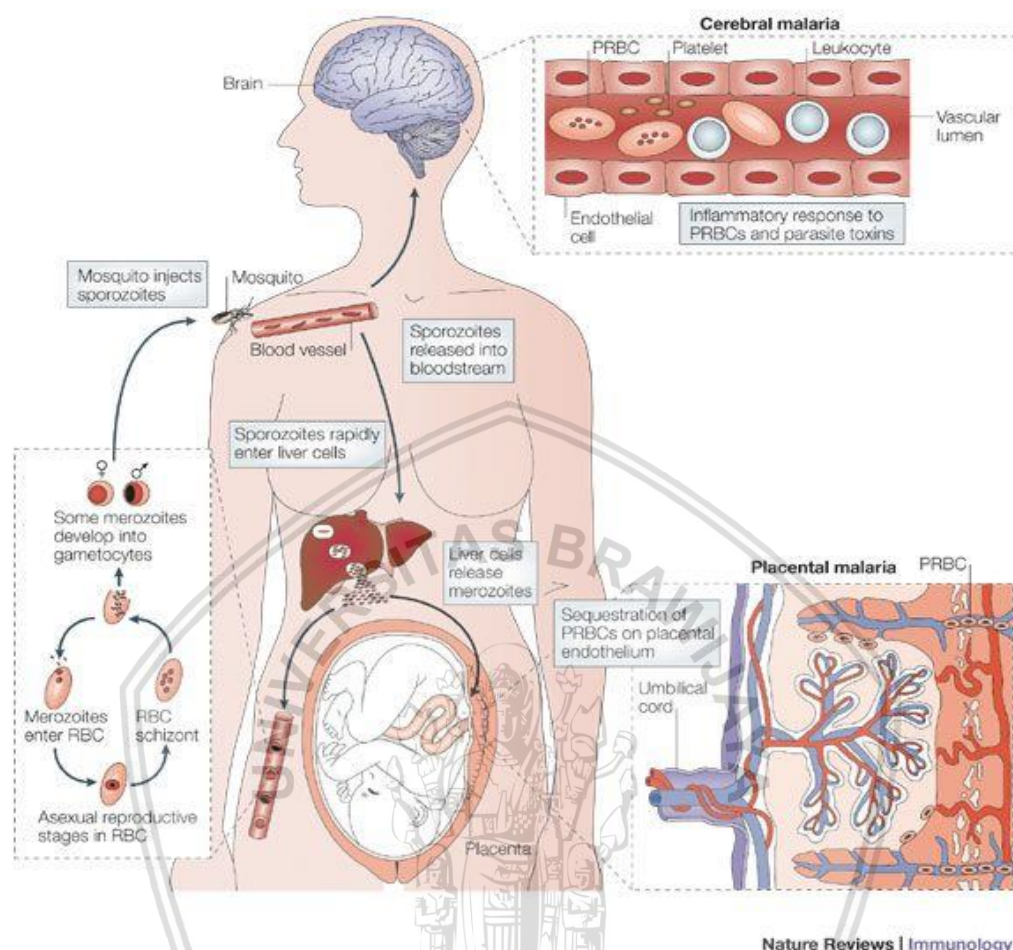
Siklus hidup *Plasmodium vivax*, dimulai dari fase seksual *sporogoni* di dalam nyamuk *Anopheles* betina yang menghasilkan sporozoit, serta tahap aseksual skizogoni di dalam tubuh manusia yang menghasilkan skizon dan merozoit. Di dalam aliran darah, beberapa merozoit berdiferensiasi menjadi gametosit (gametogoni), yang akan dihisap oleh nyamuk *Anopheles* betina akan menjadi matang dan berubah menjadi mikrogamet jantan dan makrogamet betina. Perpaduan mikrogamet dan makrogamet menghasilkan pembentukan ookinet motil yang bermigrasi ke bagian luar dinding lambung nyamuk dan membentuk oosit. Di dalam oosit, sporozoit yang berbentuk benang oosit akan



Dari gambar di atas dijelaskan terdapat duabelas proses, tiga tahap (tahap di dalam hepar manusia, di dalam darah manusia dan di dalam tubuh nyamuk), dan tiga siklus (siklus *exo-erythrocytic*, siklus *erythrocytic*, dan siklus *sporogonic*) (CDC, 2018).

2.3.4 Patofisiologi dan Patogenesis Malaria spesies *Plasmodium vivax*

Patofisiologi malaria dimulai dari nyamuk *Anopheles* yang terinfeksi menginvasi inang melalui gigitan, *Plasmodium vivax* akan dikeluarkan dari saliva nyamuk menuju aliran pembuluh darah manusia. Dalam beberapa jam parasit tersebut akan bermigrasi ke hati, tempat terjadinya replikasi sebelum dilepaskan kembali ke aliran darah inang. Diketahui bahwa masa inkubasi dari sejak di gigitan nyamuk hingga timbul gejala sekitar 7 hingga 30 hari, gejalanya meliputi sakit kepala, mual, muntah dan mialgia (Julianna dan Nawal, 2009). Infeksi malaria menyebabkan terbentuknya kompleks imunoglobulin dan peningkatan produksi faktor nekrosis tumor. Pada genus *Plasmodium vivax* mempunyai kemampuan menyebabkan sitoadheren atau melekatnya eritrosit pada dinding vaskuler tidak seperti *Plasmodium falciparum* yang dilanjutkan dengan proses sekuestrasi atau kemampuan sel darah merah yang terinfeksi bersembunyi pada pembuluh darah kecil, namun kejadian adheren pada *Plasmodium vivax* ini akan menyebabkan kerusakan pada organ akhir berupa perdarahan dan penyumbatan (*infract*) (White *et al.* 2008).



Gambar 2.3.4 : Patogenesis infeksi malaria plasenta
(Sumber : Schofield dan Grau2005)

Dari gambar di atas dijelaskan bahwa infeksi malaria yang terjadi pada ibu hamil dapat mengakibatkan obstruksi pada *microcirculatory* intervillous, yang bermanifestasi pada kelahiran bayi.

Sistem imun dan sitokin seperti imunoglobulin kompleks dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF), membantu memfagositosis sel darah yang terinfeksi pada hati akibat infeksi *Plasmodium*, tetapi kontribusinya juga mengakibatkan anemia dan kekurangan asam folat (Schantz dan Nour, 2009). Pada wanita hamil, mekanisme sekuestrasi atau bersembunyinya sel darah merah terjadi di plasenta yang disebabkan *Plasmodium falciparum* dan mekanisme adheren akibat dari

Plasmodium vivax, mengakibatkan terjadinya anemia berat yang tidak proposional. Di Afrika diperkirakan infeksi malaria mengakibatkan anemia berat selama masa kehamilan mencapai 25% dengan hemoglobin kurang dari 7mg/dL (Desai *et al.* 2007).

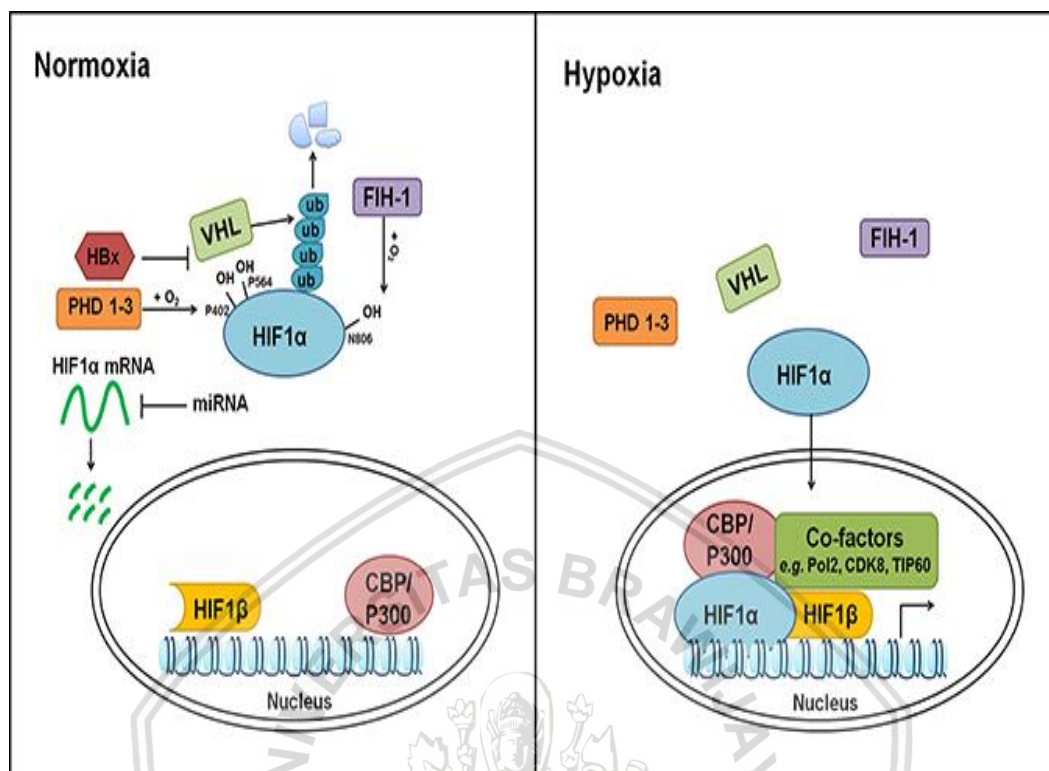
2.4 Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha (HIF-1 α)

2.4.1 Definisi Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha (HIF-1 α)

Hypoxia inducible factor 1-alpha (HIF-1 α) adalah subunit dari faktor transkripsi heterodimer *hypoxia inducible factor 1* (HIF-1) yang dikodekan oleh gen HIF1A (Hogenesch *et al.* 1997). HIF-1 α mempunyai struktur domain dasar *helix loop helix* dan mempunyai fungsi sebagai regulator transkripsi terhadap respon seluler dan hipoksia (Iyer *et al.* 1998).

2.4.2 Fungsi Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha (HIF-1 α)

Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha (HIF-1 α) berfungsi sebagai agen mediator yang mengatur transkripsi dari respon adaptif terhadap hipoksia. Dalam kondisi hipoksia, teraktifasi transkripsi lebih dari 40 gen, termasuk eritropoietin, glukosa ransporter, enzim glikolitik, faktor pertumbuhan endotel vaskular, *hypoxia inducible lipid droplet associated* (HILPDA), dan gen lain yang produk proteinnya meningkatkan pengiriman oksigen atau memfasilitasi adaptasi metabolik dalam kondisi hipoksia. Selain itu, HIF-1 α berperan penting dalam vaskularisasi embrionik, angiogenesis tumor dan patofisiologi penyakit iskemik. *Heterodimerizes* dengan *aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator* (ARNT); heterodimer berikatan dengan urutan DNA inti 5'-TACGTG-3' dalam *Hypoxia Respon Elemen* (HRE) dari promotor gen target (Masson *et al.* 2001).



Gambar 2.4.2 : Pathway aktivasi HIF 1- α
(Sumber : Chu dan Tao, 2017)

Pada gambar di atas menjelaskan terdapat perbedaan mekanisme kerja HIF-1 α pada kondisi normoksia dan hipoksia. Pada kondisi normoksia HIF-1 α berada di luar nukleus dan berikatan dengan Von Hippel Lindau (VHL), *Prolyl Hydroxylase Domain* 1-3 (PHD 1-3), serta adanya O₂ menunjukkan tidak terdapat penyumbatan aliran untuk mengalirkan O₂. Sedangkan, pada kondisi hipoksia HIF-1 α sebagian besar terdapat di nukleus dan tidak berikatan dengan VHL maupun PHD 1-3.

2.4.3 Mekanisme Aktivasi Ekspresi *Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha* (HIF-1 α)

Aktivasi HIF-1 α membutuhkan perekrutan koaktivator transkripsional seperti *CAMP Responsive Element Binding Protein Binding Protein* (CREBBP) dan *E1A Binding Protein P300* (EP300). Aktivitas ditingkatkan dengan interaksi antara keduanya, serta *Nuclear Receptor Coactivator 1* (NCOA1) atau *Nuclear Receptor Coactivator 2* (NCOA2). Interaksi dengan protein pengatur redoks *Absolute Protein Expression* (APEX) akan mengaktifkan *C-Terminal Trans-*

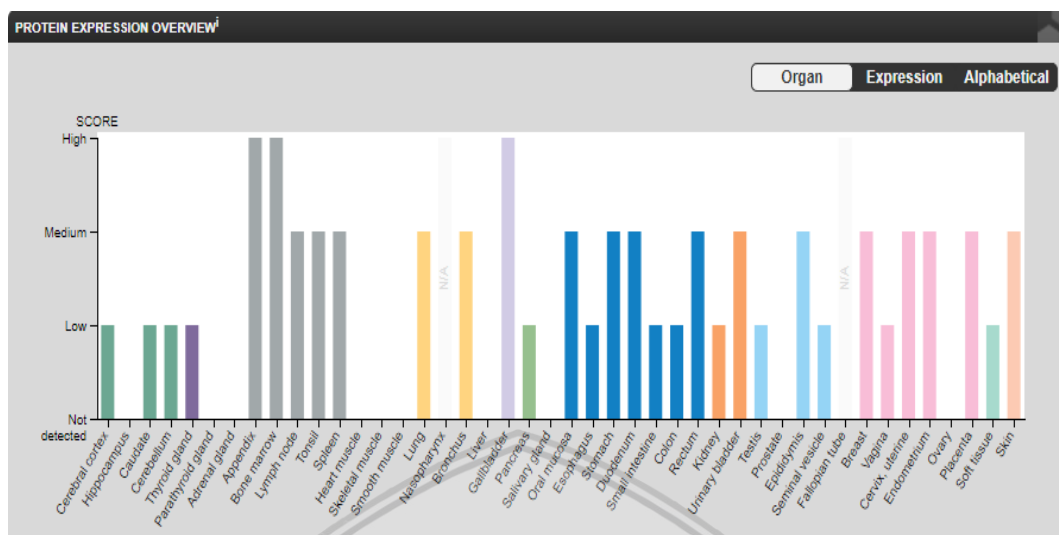
Activating Domain (CTAD) dan mempotensiasi aktivasi oleh NCOA1 dan CREBBP. *Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha* (HIF-1 α) juga terlibat dalam distribusi aksonal dan transportasi mitokondria di neuron selama hipoksia (Bae *et al.* 2004).

Ekspresi HIF-1 α akan muncul pada jaringan yang mempunyai kadar oksigen rendah. Selain itu, ekspresi HIF-1 α dapat diinduksi oleh berbagai kondisi yang diperantarai sitokin dan faktor pertumbuhan seperti *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Fibroblast Growth Factor-2* (FGF2), *Insulin-Like Growth Factor 2* (IGF2), *Transforming Growth Factor Beta 1* (TGFB1), *Hepatocyte Growth Factor* (HGF), *Tumor Necrosis Factor* (TNF), *Interleukin-1 Beta* (IL1B), *Angiotensin-2* (ANG-2) dan trombin (Foxler *et al.* 2018).

2.4.4 Lokalisasi HIF-1 α di dalam tubuh

Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha (HIF-1 α) secara umum dapat diekspresikan di setiap organ. Pada umumnya ekspresi HIF-1 α akan tampak berlebihan pada mayoritas kanker dan metastasis, karena didapatkan adanya hipoksia intratumoral dan sebagai akibat mutasi pada gen yang mengkodekan onkoprotein dan tumor supresan. Ekspresi yang lebih tinggi terlihat pada tumor hipofisis dibandingkan dengan kelenjar pituitari (Shan *et al.* 2012).

Berdasarkan dari database *the human protein atlas*, berikut adalah daftar organ yang dapat mengekspresikan HIF-1 α dengan skor ekspresi yang berbeda-beda pada masing-masing organ, mulai dari rendah, sedang dan tinggi.



Gambar 2.4.4 : Skor HIF-1 α pada setiap organ tubuh manusia
(Sumber : Uhlen *et al.* 2010)

Pada gambar di atas dijelaskan bahwa skor tertinggi HIF-1 α terletak pada organ; appendix, bone marrow, dan gallbladder, skor sedang HIF-1 α terletak pada organ; limpa nodi, tonsil, lien, paru, bronkus, mukosa mulut, lambung, duodenum, rektum, vesika urinaria, epididimis, kelenjar mammae, servik, uterus, endometrium, plasenta, dan kulit, sedangkan skor rendah HIF-1 α terletak pada organ; kortek serebral, hipokampus, serebelum, kelenjar tiroid, pankreas, esofagus, usus halus, kolon, ginjal, testis, vesikula seminalis, vagina, dan otot polos.

2.4.5 Ekspresi *Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha* (HIF-1 α) di Plasenta

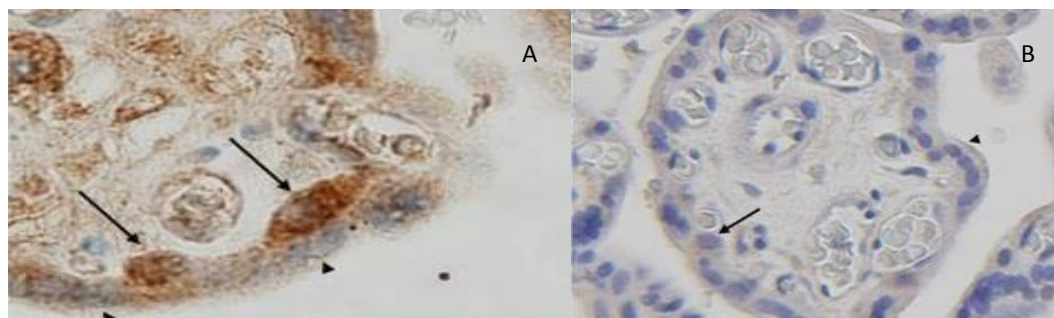
Ekspresi HIF-1 α pada plasenta dapat ditemukan di beberapa bagian dari plasenta seperti pada extravillous trofoblas, villus, sinsitiotrofoblas maupun desidua basalis.



Gambar 2.4.5 A : Ekspresi HIF-1 α pada organ plasenta
(Sumber: Wei *et al.* 2014)

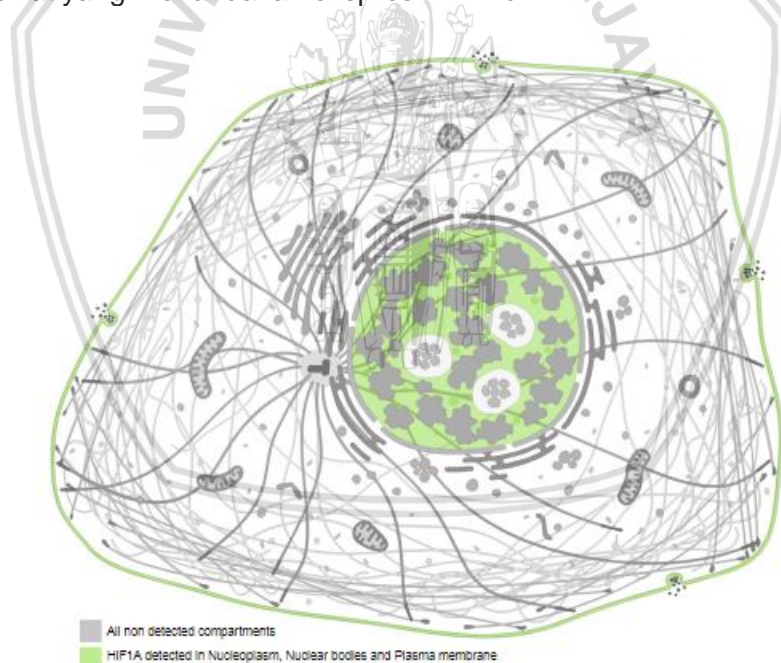
Secara fisiologis pada fase tertentu kehamilan normal ditemukan peningkatan HIF-1 α . Kondisi ini dikarenakan perkembangan awal plasenta terjadi di lingkungan rendah oksigen, di mana perlindungan terhadap radikal bebas sangat sedikit. Studi elektroda oksigen pada *in vivo* mengungkapkan bahwa sebelum 10 minggu kehamilan, tekanan O₂ adalah 20 mmHg (setara dengan 2%-3% O₂), sementara setelah ruang intervillous terbuka (10-12 minggu), kadar O₂ meningkat menjadi 55 mmHg (8%–10% O₂) (Rodesch *et al.* 1992). Faktanya, dalam plasenta trimester pertama, HIF-1 α diekspresikan di syncytiotrophoblasts dan di sitotrofoblas vili (Rajakumar dan Conrad, 2000). Sebuah studi oleh Letta *et al.*, Menunjukkan bahwa HIF-1 α mRNA dan protein memuncak pada usia kehamilan 7-10 minggu, ketika tekanan oksigen rendah, dan akan menurun setelahnya (Letta *et al.* 2006). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa O₂ adalah regulator utama dari diferensiasi trofoblas. Penelitian *in vitro* dari Genbacev *et al.*, menunjukkan bahwa kadar pO₂ yang rendah, sebanding dengan yang ditemukan pada awal kehamilan di lingkungan rahim, hal ini mendukung proliferasi trofoblas, sementara peningkatan kadar O₂ dikaitkan dengan perolehan fenotip invasif oleh sel-sel trofoblas (Genbacev *et al.*, 1997).

Selain itu, kondisi patologis dengan kadar O₂ di dalam jaringan rendah akan menyebabkan terjadinya peningkatan ekspresi dari HIF-1 α . Beberapa kondisi patologis tersebut umumnya berkaitan dengan riwayat kesehatan ibu yang meliputi, preeklamsia, sindroma yang diperkirakan dapat menginvasi trofoblas dan kelainan pada plasenta; sehingga menyebabkan hipoksia plasenta persisten dan pelepasan berbagai mediator inflamasi ke dalam sirkulasi maternal yang pada akhirnya menyebabkan disfungsi endotel (Kanasaki *et al.* 2009).



Gambar 2.4.5 B : Perbandingan ekspresi HIF-1 α pada kondisi (A) preeklamsia dan (B) pada kondisi kehamilan normal
(Sumber : Tatsuya *et al.* 2017)

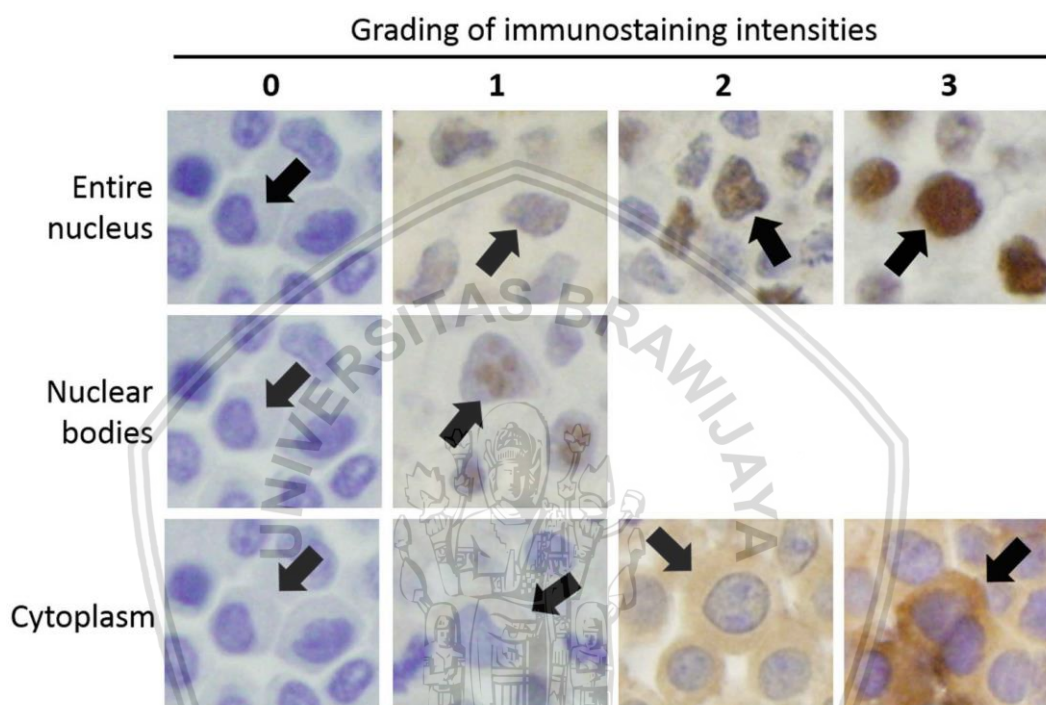
Pada gambar di atas menjelaskan bahwa warna coklat yang menandakan adanya ekspresi HIF-1 α terdapat pada gambar A di mana gambar tersebut merupakan sampel pasien preeklamsia, warna coklat yang ditunjukkan oleh panah tersebut merupakan sinsitiotrofoblas plasenta, terdapat penurunan kadar O₂ di dalam sinsitiotrofoblas. Sedangkan pada gambar B tidak diketahui adanya warna coklat yang menandakan ekspresi HIF-1 α .



Gambar 2.4.5 C : Lokasi ekspresi HIF-1 α pada sel
(Sumber : Uhlen *et al.* 2010)

Di dalam sel ekspresi HIF-1 α dapat ditemukan pada *nucleoplasma*, *nuclear bodies* dan *plasma membrane*.

Berdasarkan dari mekanisme kerja HIF-1 α , protein ini mempunyai target organ pada nukleus sel. Namun, tidak menutup kemungkinan HIF-1 α akan terekspresi pada sitoplasma maupun plasma membran. Kondisi ini dapat dipengaruhi oleh kerusakan pada jaringan



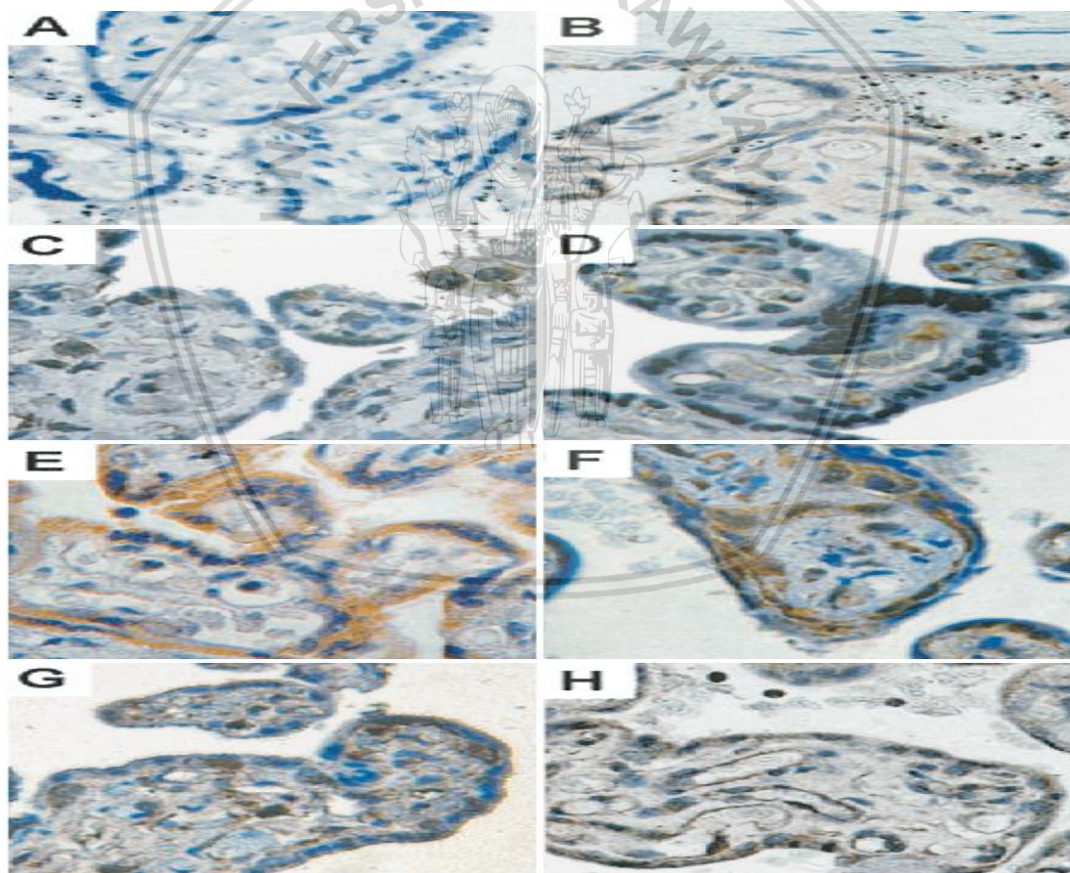
Gambar 2.4.5 D : Perbedaan ekspresi HIF-1 α pada *nucleus*, *nuclear bodies*, *cytoplasm*
(Sumber : Takehiro *et al.* 2016)

2.4.6 Ekspresi HIF-1 α Kaitannya dengan Infeksi Malaria Secara Umum dan Malaria dalam Kehamilan

Pada umumnya ekspresi *Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha* (HIF-1 α) pada kasus infeksi akan mengalami peningkatan, termasuk juga dengan infeksi malaria. Beberapa kasus malaria ditemukan adanya peningkatan secara signifikan. Salah satunya pada penelitian yang dilakukan oleh Chasper *et al*, mengenai serebral malaria menunjukkan bahwa patogenesis dari serebral malaria mengakibatkan terjadinya perfusi mikrovaskuler, peningkatan peradangan,

sitoaderensi, dan aktivasi endotel yang mengakibatkan peningkatan dari HIF-1 α (Chasper *et al*, 2014).

Selain itu, infeksi malaria juga dapat terjadi pada masa kehamilan yang dapat meningkatkan ekspresi HIF-1 α , kondisi ini dibuktikan pada penelitian yang dilakukan oleh Boeuf *et al* mengenai malaria plasenta, ditemukan adanya peningkatan secara signifikan ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta tidak hanya peningkatan HIF-1 α , melainkan bermanifestasi pada pertumbuhan janin yang terhambat sehingga berakibat bayi berat lahir rendah (Boeuf *et al*. 2008). Ekspresi HIF-1 α pada malaria plasenta dapat dilihat pada gambar 2.3.6.



Gamabar 2.3.6 : Ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta
(Sumber : Boeuf *et al*. 2008)

Pada gambar di atas menunjukkan ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta dengan kondisi klinis terinfeksi malaria plasenta. Jaringan plasenta yang dilakukan pewarnaan imunohistokimia dan dilakukan pengamatan pada

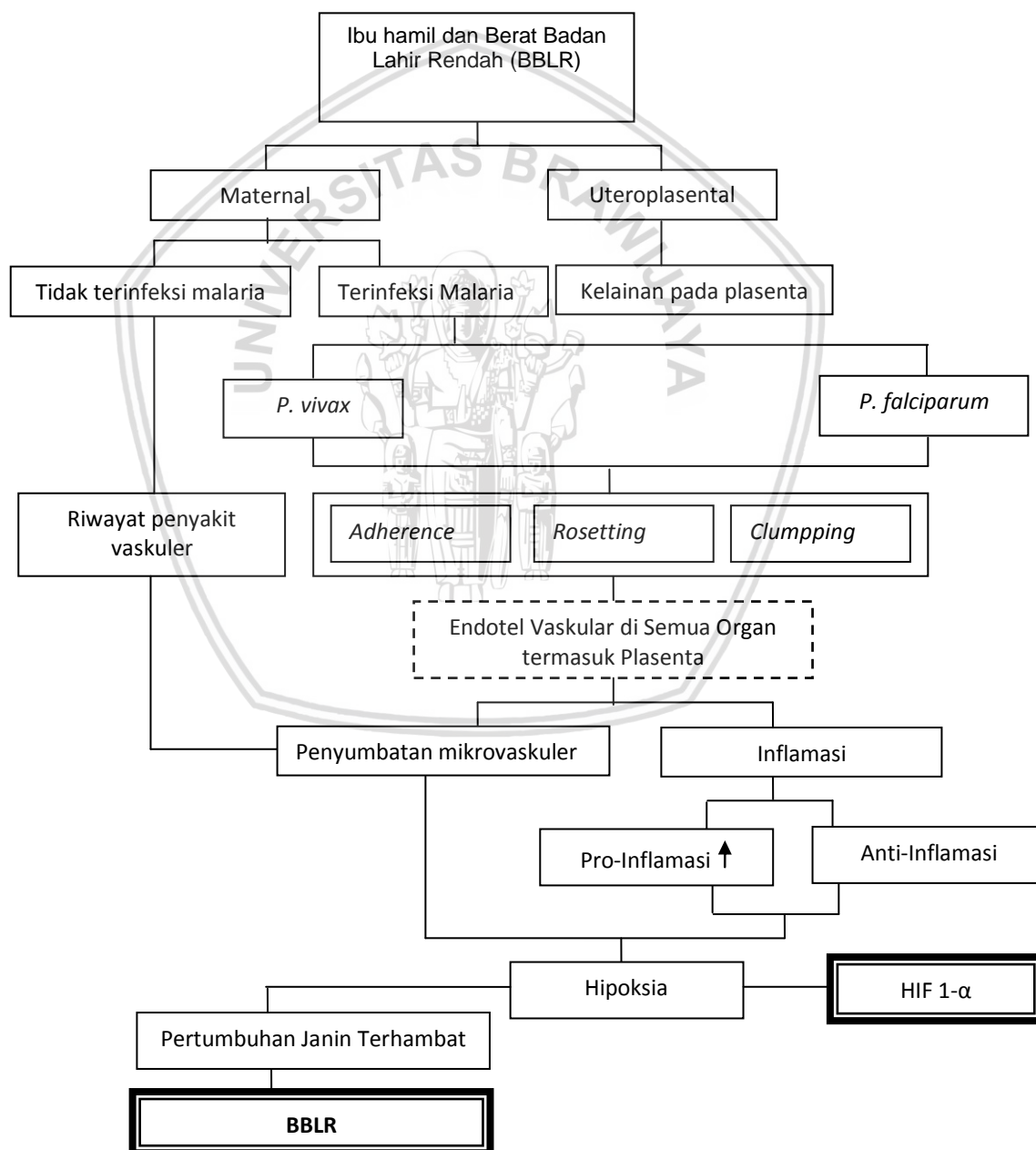
mikroskop dengan perbesaran 200x, tampak HIF-1 α terdistribusi pada setiap sel, dilihat pada pendana berwarna coklat. (A) tidak terdapat antibodi primer, (B) pewarnaan di sinsitium dan endotel dari plasenta yang terinfeksi malaria, (C) pewarnaan reseptor faktor pertumbuhan seperti VEGF1, Flt-1, di dalam sinsitium, dinding pembuluh villi, dan sel *Hofbauer*, (D) pewarnaan muncul karena adanya reseptor yang mengdanung domain kinase, terutama di endothelium pembuluh villi, (E) pewarnaan pada VEGF terutama pada sinsitium yang terinfeksi malaria dengan intervillitis, (F) pewarnaan terlihat pada sel stroma, (G) tidak berbeda dengan gambar B yang tampak pewarnaan di sinsitium dan endotel dari plasenta yang terinfeksi malaria, (H) pewarnaan pada sinsitium dan sel stroma yang diduga sel *Hofbauer* (Boeuf *et al.* 2008).



BAB III

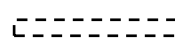
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan

 : Variabel yang diteliti

 : Media perantara

Gambar 3.1 Kerangka Konsep

Kerusakan pada endotel plasenta akibat infeksi *P. vivax* akan meningkatkan terjadinya penyumbatan mikrovaskuler dan inflamasi pada plasenta. Terjadinya inflamasi pada plasenta akan mengaktivasi sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi. Penyumbatan mikrovaskuler dan inflamasi, keduanya akan mengakibatkan terjadinya hipoksia, di mana kadar O_2 di dalam jaringan tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan jaringan serta berakibat pada terhambatnya pertumbuhan janin. Selain itu, kondisi hipoksia memicu terktivasinya HIF-1 α untuk membantu dalam menyuplai O_2 pada jaringan yang mengalami hipoksia.

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekspresi HIF-1 α ditemukan lebih tinggi pada plasenta dengan infeksi malaria dibandingkan dengan plasenta pada kehamilan yang tidak terinfeksi malaria, meskipun bayi yang lahir mempunyai kesamaan berat badan lahir rendah (BBLR).

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan desain *cross sectional* yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan ekspresi HIF-1 α yang terinfeksi malaria dan tidak terinfeksi malaria pada jaringan plasenta bayi BBLR pada kehamilan terinfeksi malaria dan kehamilan tidak terinfeksi malaria di RSUD TC Hillers, Maumere, Kabupaten Sikka, Provinsi Nusa Tenggara Timur. Metode ini melalui 3 tahap, yaitu tahap parafin blok, tahap pewarnaan imunohistokimia dan tahap penghitungan ekspresi HIF-1 α , serta membandingkan kadar HIF-1 α antara yang terinfeksi malaria dan tidak terinfeksi malaria.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah pasien ibu hamil yang melahirkan bayi BBLR di RSUD TC Hillers, Maumere, Kab. Sikka, NTT.

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel dari penelitian ini adalah Bahan Biologis Tersimpan (BBT) berupa jaringan plasenta ibu yang melahirkan bayi BBLR yang terinfeksi malaria dan yang tidak di RSUD TC Hillers, Maumere, Kab. Sikka, NTT (Prasetyorini, 2017).

4.2.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Pada penelitian ini, terdapat kriteria inklusi dan eksklusi sampel penelitian yang bertujuan agar sampel penelitian yang akan digunakan homogen. Hal tersebut disebabkan homogenitas sampel penelitian merupakan syarat yang digunakan pada penelitian untuk mencegah terjadinya bias. Berikut ini merupakan kriteria inklusi dan eksklusi sampel penelitian yang digunakan.

Tabel 4.2.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Kriteria inklusi	Kriteria eksklusi
- Sampel plasma tali pusat yang memenuhi syarat : plasma tidak lisis, tersimpan tidak lebih 6 bulan, dan jumlahnya mencukupi	- Sampel plasma tali pusat yang rusak

4.2.4 Prosedur Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari jaringan plasenta ibu hamil yang ada di RSUD TC Hillers, Maumere, Kab. Sikka, NTT (Prasetyorini, 2017). Selama rentan waktu Agustus sampai November, yang di simpan di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Brawijaya, Malang.

Sampel yang digunakan merupakan data sekunder yang teknik pengambilan sampel pada penelitian ini, menggunakan *Non-Rdnom Sampling* dengan metode teknik *Purposive Sampling*.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah infeksi malaria.

4.3.2 Variabel tergantung

Variabel tergantung adalah ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta ibu hamil.

4.3.3 Variabel Perancu

Variabel perancu dalam penelitian ini adalah variabel yang dapat mengakibatkan perancu atas variabel tergantung yang dihasilkan seperti kemungkinan infeksi lain selain infeksi malaria dalam kehamilan, sindroma metabolik dan preeklamsia/eklamsia.

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di :

1. Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
2. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

Pada bulan Agustus sampai November 2018.

4.5 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dengan menggunakan metode observasional dengan desain *cross sectional* yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan ekspresi HIF-1 α yang terinfeksi malaria dan tidak terinfeksi malaria pada jaringan plasenta ibu hamil yang melahirkan bayi

BBLR di RSUD TC Hiller, Maumere, Kabupaten Sikka, Provinsi Nusa Tenggara Timur.

4.6 Alat dan Bahan

4.6.1 Parafin Blok dan Potong Beku

1. Alat : *Rotatory microtome, Object Glass, Holder.*
2. Bahan : *Phospat Buffer Solution (PBS)*, formalin 10%, Alkohol (30%, 50%, 70%, 80%, 96% dan Absolut), Xilol, Parafin, Gelatin 5%, Beaker Glass 250mL.

4.6.2 Deparafinasi

1. Bahan : Hasil dari Parafin *Block*, Xilol, Alkohol berseri (30%, 50%, 70%, 80%, 96% dan Absolut), dH₂O.

4.6.3 Proses Imunohistokimia

1. Alat : Preparat, *cover glass*, mikroskop cahaya
2. Bahan : PBS pH 7,4, H₂O₂ 3%, FBS 5% yang mengandung 0,25% Triton X-100, Poliklonal antibodi HIF-1 α , *anti mouse HRP conjugated*, Diamino Benzine (DAB), *Counterstaining* menggunakan Mayer *Hematoxilen*, tap water, dH₂O.

4.6.4 Perhitungan terhadap Pewarnaan Imunohistokimia HIF-1 α

1. Alat : Mikroskop cahaya Olympus CX23
2. Bahan : Preparat

4.7 Definisi/Istilah Operasional

1. Kehamilan Terinfeksi Malaria

Kehamilan terinfeksi malaria atau disebut juga dengan malaria dalam kehamilan adalah infeksi malaria yang terjadi selama masa kehamilan dengan data sekunder yang dilakukan atas dasar ditemukannya parasit dalam darah tepi dengan pemeriksaan hapusan darah dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) serta ditemukannya parasit dan atau pigmen malaria pada plasenta dengan pemeriksaan histologis.

2. Bayi Berat Lahir Rendah (BBLR)

Bayi berat lahir rendah (BBLR) merupakan salah satu kondisi berat badan bayi baru lahir <2500 g dengan diperkirakan berat janin <10th persentil, pemeriksaan lingkaran perut <2,5th persentil dan dengan penilaian USG pada pertumbuhan janin, ditemukan perubahan indeks velocimetri doppler dengan bentuk gelombang arteri umbilical abnormal atau penurunan denyut arteri serebral tengah yang menunjukkan adanya kelainan pada janin merupakan karakteristik yang disebabkan oleh terjadinya IUGR (*Intrauterine growth restriction*) (Alberry dan Soothill, 2007).

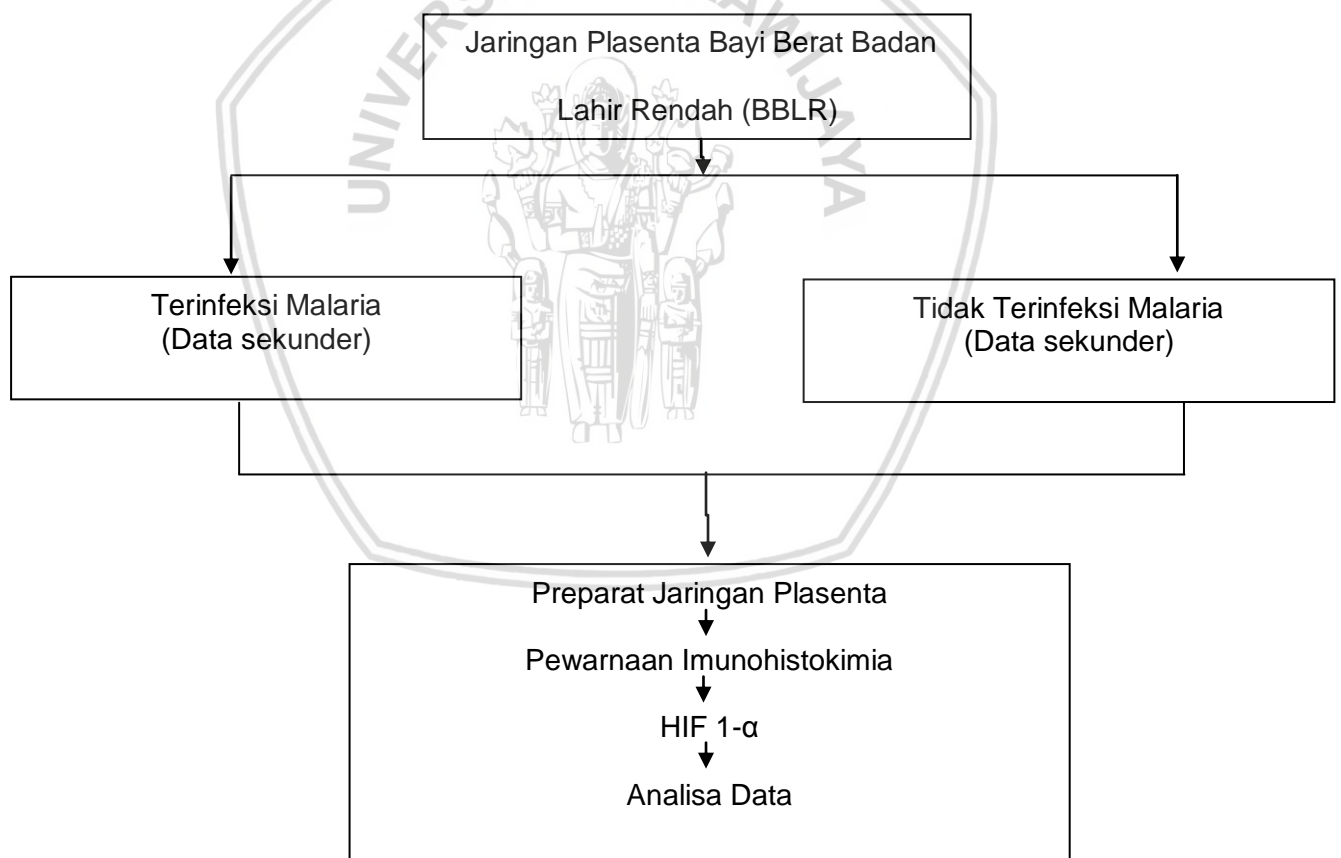
3. Ekspresi HIF-1 α

Ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta dengan menggunakan pewarnaan imunohistokimia mouse monoklonal antibodi HIF-1 α dari *Santa Cruz Biotechnology* dengan nomor catalogue HIF-1 α (28b): sc-13515. Ekspresi HIF-1 α dihitung melalui mikroskop Olympus CX23, dengan melihat 20 lapang pandang pada perbesaran 1000x dengan metode manual (Lee *et al.* 2014).

4.8 Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data

Pengamatan ekspresi HIF-1 α pada plasenta ibu hamil yang melahirkan bayi BBLR yang memenuhi kriteria inklusi. Pemilihan plasenta dikarenakan pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pada plasenta dapat memberikan gambaran klinis dan imunologis akibat dari malaria plasenta yang mengkaitkan kondisi klinis ibu dan bayi yang dikandungnya, yang dapat dilihat melalui pewarnaan rutin dan imunohistokimia.

4.8.1 Alur Penelitian



Gambar 4.8.1 Alur Penelitian

4.8.2 Pengamatan Preparat Jaringan

Jaringan diambil dari kelahiran bayi dengan berat badan lahir rendah dari ibu yang terinfeksi malaria dan tidak terinfeksi malaria di RSUD TC Hillers, Maumere, Kabupaten Sikka, Provinsi Nusa Tenggara Timur lalu dikirim dan diserahkan ke Laboratorium Patologi Anatomi FKUB untuk pembuatan parafin blok dan preparat jaringan plasenta.

4.8.3 Pembuatan Parafin Blok

Jaringan dicuci dengan PBS 3-5X untuk membersihkan dari kontaminan. Kemudian difiksasi pada formalin 10%. Setelah itu dilakukan dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat (30%, 50%, 70%, 80%, 96% dan absolut) masing-masing 60 menit. Dilakukan *Clearing* menggunakan xilol 2 kali masing-masing 60 menit. Kemudian dilakukan infiltrasi dengan parafin lunak selama 60 menit pada suhu 48°C. Kemudian dilakukan blok dalam parafin keras pada cetakan dan didiamkan selama sehari. Keesokan harinya ditempelkan pada holder dan dilakukan pemotongan setebal 4-6µm dengan *rotary microtome*. Dilakukan *mounting* pada gelas objek dengan gelatin 5%.

4.8.4 Proses Deparafinisasi

Gelas obyek hasil paraffin block direndam dalam xilol 2 kali masing-masing selama 5 menit. Setelah itu dilakukan rehidrasi menggunakan alkohol berseri (absolut, 96%, 80%, 70%, 50%, dan 30%) masing-masing selama 5 menit. Kemudian dibilas dalam dH₂O selama 5 menit.

4.8.5 Proses Imunohistokimia

Slide dicuci dengan PBS pH 7,4 satu kali selama 5 menit. *Blocking endogenous* peroksida menggunakan 3% H₂O₂ selama 20 menit. Cuci

menggunakan PBS pH 7,4 tiga kali, selama 5 menit. *Blocking unspecific* protein menggunakan 5% FBS yang mengandung 0,25% Triton X-100. Cuci menggunakan PBS pH 7,4 tiga kali, selama 5 menit. Inkubasi menggunakan monoklonal antibody HIF-1 α , selama 60 menit. Cuci menggunakan PBS Ph 7,4 tiga kali, selama 5 menit. Inkubasi menggunakan *anti mouse HRP conjugated* selama 40 menit. Cuci menggunakan PBS pH 7,4 tiga kali, selama 5 menit. Tetesi dengan *Diamino Benzidine* (DAB) dan inkubasi selama 10 menit. Cuci menggunakan PBS pH 7,4 tiga kali, selama 5 menit. Cuci menggunakan dH₂O, selama 5 menit. *Counterstaining* menggunakan *Meyer Hematoxilen* yang diinkubasi selama 10 menit dan cuci menggunakan tap water. Bilas menggunakan dH₂O dan kering anginkan. *Mounting* menggunakan entelan dan tutup dengan cover glass. Amati pada mikroskop cahaya.

4.8.6 Metode Penghitungan terhadap Hasil Pewarnaan Imunohistokimia

Penelitian ini menggunakan jaringan plasenta ibu hamil yang melahirkan bayi BBLR dengan terinfeksi malaria dan tidak terinfeksi malaria. Dengan derajat kepercayaan 99% dengan desain observasi *crossectional*.

1. Terdapat 25 *slide* (pada pemeriksaan PCR 13 *slide* positif terinfeksi malaria dan 12 *slide* tidak terinfeksi malaria), kesemua *slide* dilakukan pewarnaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal HIF-1 α dari Santa Cruz Biotechnology nomor catalogue HIF-1 α (28b): sc-13515. Setiap sampel jaringan dibuat sediaan irisan, dengan ketebalan 4 μ m, kemudian dideteksi :
 - a. Pemeriksaan imunohistokimia terhadap ekspresi HIF-1 α untuk melihat banyaknya sel yang terobstruksi oleh agen *Plasmodium vivax*.

- b. Pemeriksaan imunohistokimia terhadap ekspresi HIF-1 α untuk melihat banyaknya sel yang terobstruksi pada jaringan plasenta yang terinfeksi malaria dan tidak terinfeksi malaria.
2. Pemeriksaan dan perhitungan ekspresi HIF-1 α diamati ekspresinya dengan melihat adanya warna coklat pada nukleus. Masing-masing *slide* diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x dan sebanyak 20 lapang pandang. Lalu dihitung jumlah sel yang berwarna coklat yang mendanakan protein tersebut diekspresikan. Untuk warna coklat yang positif ditentukan dengan menyesuaikan dengan warna coklat yang ada pada *Santa Cruz Biotechnology protein database*. Penilaian scoring terhadap ekspresi HIF-1 α dibagi menjadi 2 yaitu intensitas dan konsistensi, untuk intensitas 0 = lemah, 3 = terwarna dengan kuat, scoring konsistensi 0 = tidak ada sel yang terwarna 3 = lebih dari 2/3 sel yang terwarna (Volm *et al.* 1997).
3. Hasil setiap perhitungan ditulis pada lembar kerja dan diambil nilai rata-rata per lapang pandang.
4. Dilakukan pemulasan hematoxilen eosin yang digunakan sebagai konfirmasi struktural sel pada jaringan plasenta.
5. Analisis statistik bila semua hasil sudah dihitung dan dicatat.

Pengumpulan data :

Data dalam penelitian ini dikumpulkan dari hasil evaluasi preparat jaringan plasenta ibu yang melahirkan bayi BBLR yang terinfeksi malaria dan tidak terinfeksi malaria berdasarkan perhitungan ekspresi protein HIF-1 α setelah dilakukan pewarnaan imunohistokimia yang diberi poliklonal antibody HIF-1 α

dari *Santa Cruz Biotechnology* nomor catalogue HIF-1 α (28b): sc-13515. per 20 lapang pandang dengan pembesaran 1000x.

4.9 Analisis Data

Analisis data statistik menggunakan SPSS versi 20.0. Untuk langkah awal dilakukan uji normalitas dan homogenitas, untuk melihat distribusi dan homogenitas data dengan menggunakan analisis nonparametrik *Kolmogorov smirnov*.

Setelah diperoleh jumlah sel yang mengekspresikan protein HIF-1 α , kemudian data-data tersebut dianalisis menggunakan uji statistik *Independent T-test*. Uji statistik *Independent T-test* digunakan untuk mengetahui kekuatan perbandingan antara HIF-1 α dengan BBLR pada ibu terinfeksi malaria dan tidak, apakah dengan tingginya BBLR pada sampel yang terinfeksi malaria semakin membuat ekspresi HIF-1 α semakin mempunyai angka yang besar atau sebaliknya.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Rancangan Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan desain *Cross-Sectional Analytic*, yang bertujuan untuk membandingkan antara ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta bayi BBLR pada kehamilan terinfeksi malaria dan kehamilan tidak terinfeksi malaria di RSUD TC Hillers, Maumere, NTT. Metode ini melalui empat tahap, yaitu parafin blok dan pemotongan beku, deparafinasi, imunohistokimia (IHK) dan penghitungan terhadap pewarnaan IHK HIF-1 α pada jaringan plasenta bayi BBLR.

Penelitian ini menggunakan sampel yang diambil dari 25 jaringan plasenta yang telah deparafinisasi dan dipotong menjadi dua potong preparat untuk masing-masing sampel. Kemudian kedua *slide* tersebut (total menjadi 50 *slide*) masing-masing dilakukan pewarnaan IHK dengan antibodi monoklonal HIF-1 α untuk mengetahui ekspresi dari protein HIF-1 α . Preparat yang telah melalui pewarnaan IHK selanjutnya akan dilakukan pemeriksaan dan perhitungan ekspresi HIF-1 α dengan mikroskop cahaya binokuler dengan perbesaran 1000x (dengan diberi minyak emersi) dan diamati sejumlah 20 lapang pandang tiap preparat.

5.1.1 Bayi Berat Lahir Rendah (BBLR)

Bayi berat lahir rendah (BBLR) adalah kondisi bayi yang lahir dengan berat badan kurang dari <10 persentil atau kurang dari 2500 gram (Longo *et al.* 2013). Hasil pengukuran bisa dilihat pada grafik 5.1.2.

5.1.2 Infeksi Malaria

Infeksi malaria merupakan salah satu faktor penyebab bayi BBLR. Berikut merupakan data dari dua kelompok sampel yaitu kelompok ibu yang melahirkan bayi BBLR dengan infeksi malaria dan tanpa infeksi malaria. Data tersebut dapat dilihat pada grafik 5.1.2.

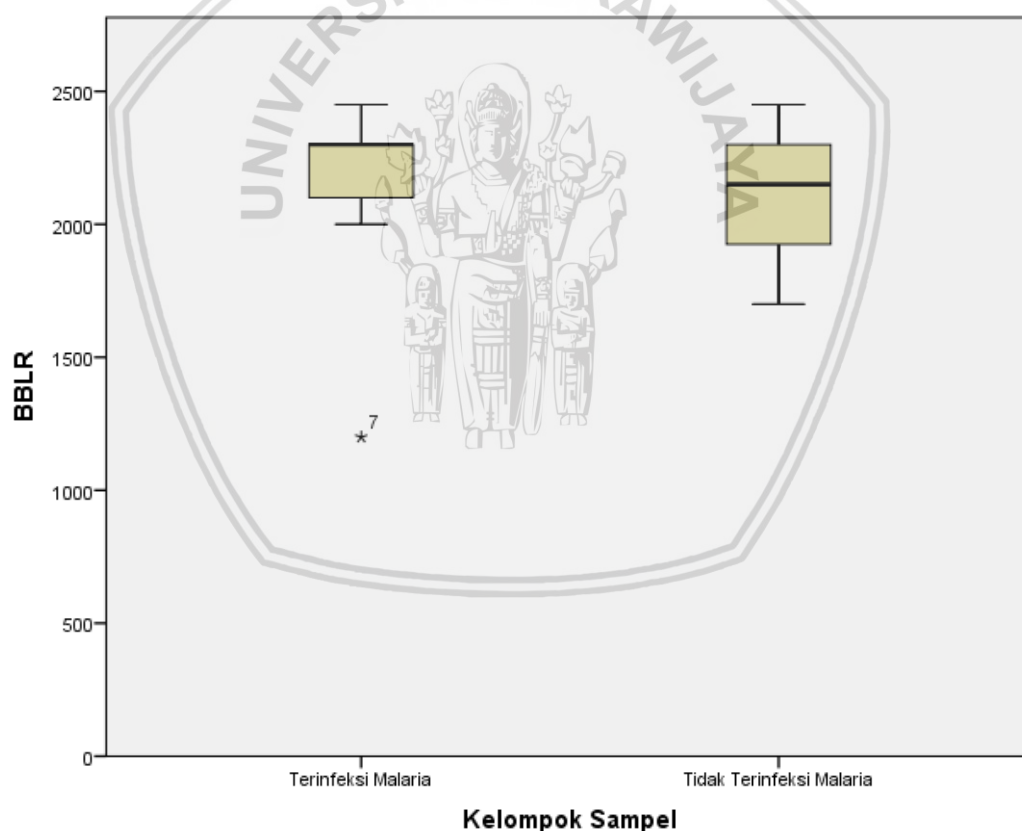
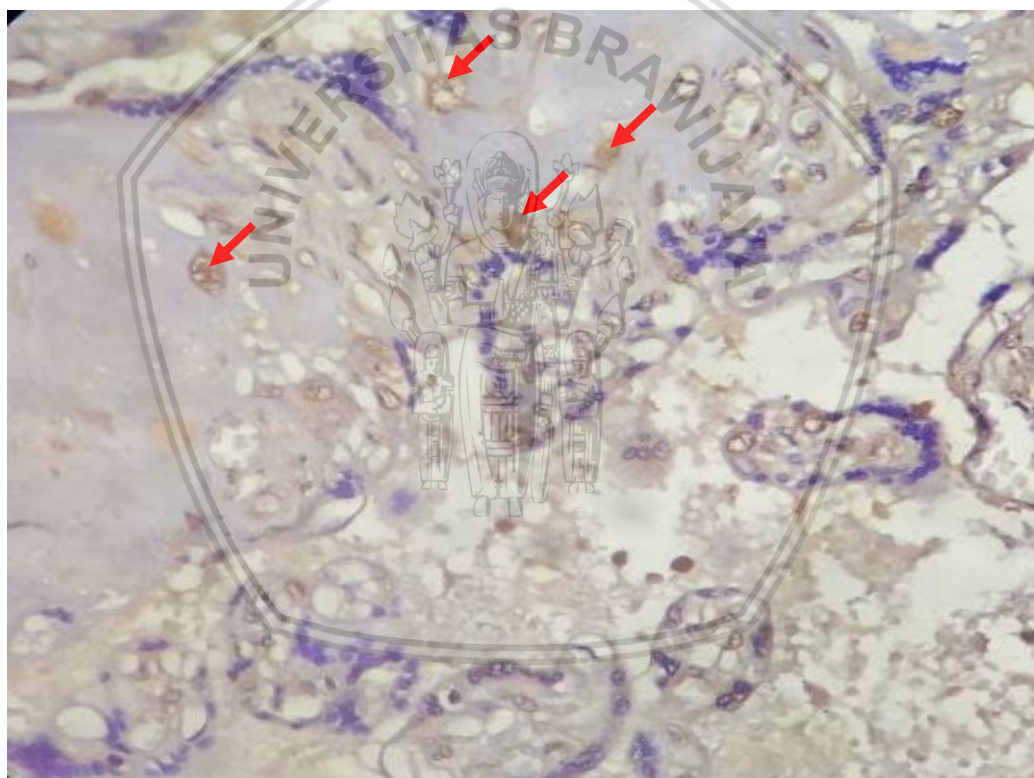


Diagram 5.1.2 Grafik Mean BBLR Jaringan Plasenta BBLR pada Kehamilan Terinfeksi Malaria dan Kehamilan yang Tidak Terinfeksi Malaria

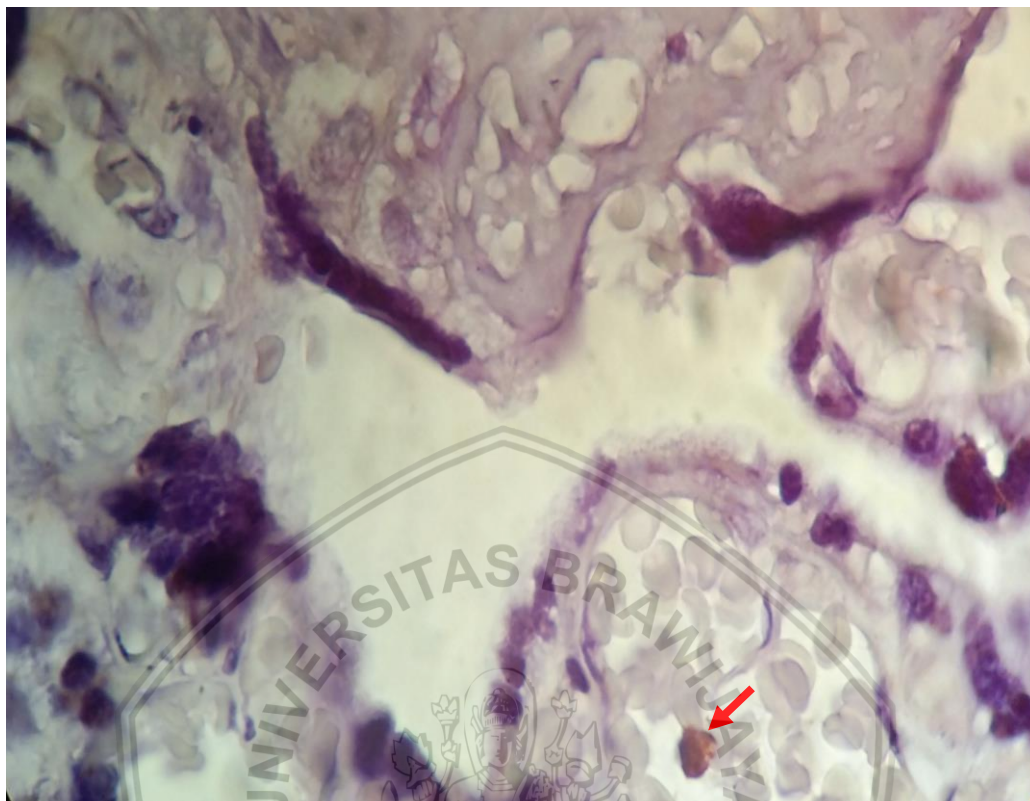
5.1.3 Ekspresi Protein HIF-1 α

Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha (HIF-1 α) adalah protein yang berfungsi sebagai regulator dalam sel dan pengatur homeostasis sistemik terhadap respon hipoksia. Pengamatan dan penghitungan ekspresi HIF-1 α pada preparat dilakukan dengan melihat adanya warna coklat pada nukleus sel, yang dihitung menurut Volm et. al. (1997), pada masing-masing preparat dengan perbesaran 1.000 kali, dan sebanyak 20 lapang pandang. Hasil pengamatan dan penghitungan ekspresi HIF-1 α dilihat pada lampiran.



Gambar 5.1.3 A: Ekspresi HIF-1 α Pada Jaringan Plasenta Kelompok Ibu yang Melahirkan BBLR Terinfeksi Malaria.

Keterangan : tanda panah merah menunjukkan ekspresi HIF-1 α pada ibu yang melahirkan BBLR terinfeksi malaria ditemukan di nukleus, membran plasma dan sitoplasma yang dapat dibedakan berdasarkan tabel perbandingan Takehiro *et al* (2016) pada sel trofoblas plasenta.



Gambar 5.1.3 B: Ekspresi HIF-1 α Pada Jaringan Plasenta Kelompok Ibu yang Melahirkan BBLR Tidak Terinfeksi Malaria.

Keterangan : tanda panah merah menunjukkan ekspresi HIF-1 α pada ibu yang melahirkan BBLR tidak terinfeksi malaria ditemukan di sitoplasma pada sel trofoblas plasenta.

5.2 Analisis Data

Untuk mengetahui uji perbandingan yang digunakan dalam analisis, maka perlu dilakukan uji normalitas terlebih dahulu. Analisis data statistik dalam penelitian ini menggunakan uji normalitas *Kolmogorov Smirnov*, kemudian dilanjutkan uji *Independent T-test*. Tes kepercayaan dari penelitian ini adalah 95%.

5.2.1 Uji Normalitas

Pada uji Kolmogorov-Smirnov menggunakan SPSS untuk mengetahui sebaran data, ekspresi HIF-1 α mempunyai nilai $p=0,028$. Karena $p<0,05$, maka

dapat diambil kesimpulan ekspresi HIF-1 α pada kedua kelompok sampel penelitian mempunyai sebaran normal.

Oleh karena syarat normalitas terpenuhi, maka data dalam penelitian ini dapat diproses dengan analisis statistik parametrik. Berdasarkan jenis data yang memiliki rasio dan kedua variabel independen, maka parametrik yang digunakan adalah uji *Independent T-test*.

Tabel 5.2.1 Uji Normalitas HIF-1 α dengan *Kolmogorov Smirnov*

Variabel	P-value
Ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta yang terinfeksi malaria	0.028
Ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta yang tidak terinfeksi malaria	0.086

5.2.2 Uji Perbandingan

Dari hasil pada tabel 5.2, diperoleh nilai $p = 0.179$ yang menunjukkan bahwa perbandingan antara ekspresi protein HIF-1 α pada kelompok ibu yang terinfeksi malaria terhadap kelompok ibu yang tidak terinfeksi adalah tidak bermakna ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan tidak ada perbedaan antara ekspresi HIF-1 α pada kedua kelompok sampel penelitian.

Tabel 5.2.2 Uji Perbandingan Ekspresi Protein HIF-1 α Jaringan Plasenta Bayi BBLR antara yang Terinfeksi Malaria dan Tidak dengan Uji *Independent T-test*

Variabel	Kelompok Terinfeksi Malaria (n=13)	Kelompok Tidak Terinfeksi Malaria (n=12)	P-Value
Ekspresi HIF-1 α			
Mean \pm SD	4.47 \pm 3.26	3.00 \pm 1.65	0.173
Min \pm Max	1-12	1-12	

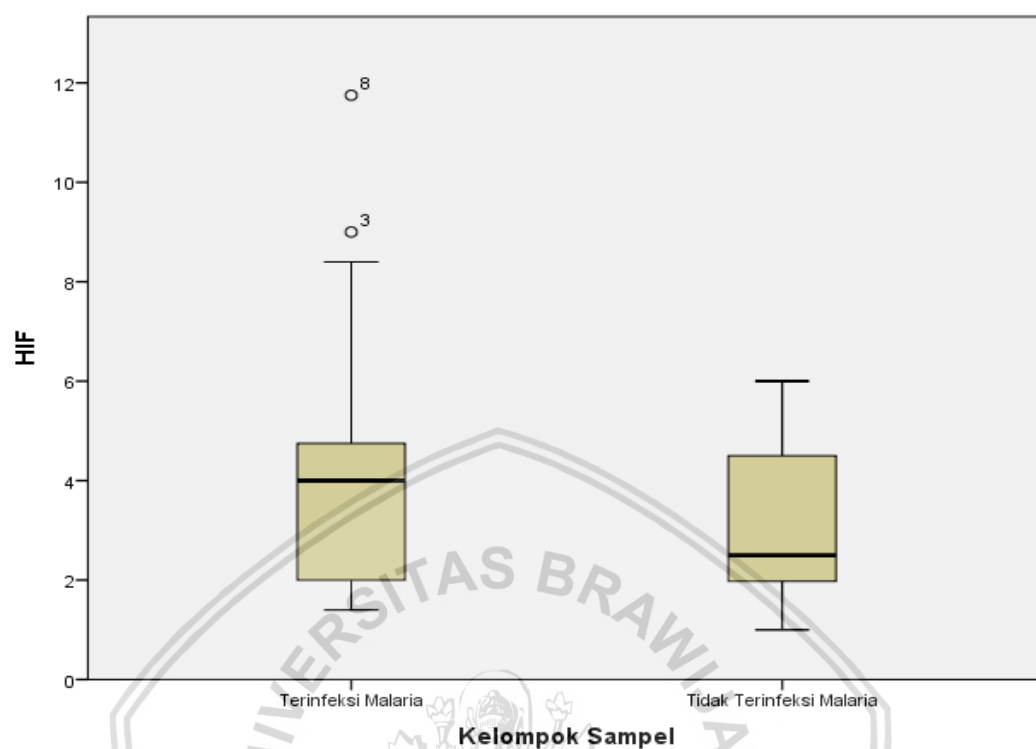


Diagram 5.2.2 Grafik Mean Ekspresi HIF-1 α Jaringan Plasenta BBLR pada Kehamilan Terinfeksi Malaria dan Kehamilan yang Tidak Terinfeksi Malaria

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan mengamati perbandingan ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta, antara dua kelompok ibu yang melahirkan BBLR dengan terinfeksi malaria dan ibu yang melahirkan BBLR tanpa infeksi malaria di RSUD TC Hiller, Maumere, Kabupaten Sikka, Nusa Tenggara Timur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jaringan plasenta bayi BBLR pada ibu yang terinfeksi malaria dan tidak terinfeksi malaria mengekspresikan protein HIF-1 α , protein ini berperan dalam revaskularisasi dan regulasi homeostasis. Dalam regulasi homeostasis, HIF-1 berikatan pada reseptor HIF-1 α dan berperan sebagai respon mediator adaptif pada proses eritropoiesis dan angiogenesis (Semenza, 2009).

Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha (HIF-1) memiliki beberapa reseptor salah satunya adalah *Hypoxia Respon Elemen* (HRE), reseptor tersebut adalah reseptor yang ada pada nukleus sel organ target. Komponen HIF mengekspresikan HIF-1 β dan tiga subunit α (HIF-1 α , HIF-2 α atau HIF-3 α). Diantara subunit tersebut, pada kondisi normoksia, dalam kondisi ini HIF-1 α terdegradasi dengan cepat oleh agen tumor supresor *von Hippel-Lindau* (pVHL) melalui jalur ubiquitin proteasome, kemudian HIF-1 mengaktifkan proses proliferasi sel, angiogenesis, dan metabolisme glukosa/besi (Ji-won *et al.* 2004).

Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha (HIF-1 α) merupakan salah satu subunit HIF, berinteraksi kuat dengan koaktivator CBP, p300, SRC-1, dan TIF2 yang

diatur oleh jumlah O_2 . Dalam kondisi hipoksia, HIF-1 α menjadi relatif stabil dan berakumulasi dari sitoplasma menuju nukleus, di mana HIF-1 α berikatan dengan HIF-1 β , dan kompleks HIF membentuk transkripsi aktif (Kallio *et al.* 1997). Hipoksia menghasilkan akumulasi HIF-1 α dengan cepat di nukleus, sehingga kadar protein HIF-1 α meningkat secara drastis dan terjadi penurunan fraksi ubiquitinasi (Sutter *et al.* 2000).

Pada BBLR, penurunan perfusi plasenta menghasilkan hipoksia plasenta dan janin yang menjadi salah satu penyebab terjadinya *Intrauterine Growth Restriction* (IUGR). Dalam kondisi hipoksia HIF-1 α , dibantu oleh faktor pertumbuhan seperti insulin janin dan ibu *Insulin Like Growth Factors* (IGFs) yang memainkan peran penting dalam mengatur pertumbuhan janin (Tazuke *et al.* 1998).

Pada pengamatan preparat dengan pewarnaan imunohistokimia HIF-1 α didapatkan protein HIF-1 α terekspresi pada nukleus sel jaringan plasenta BBLR. Selain terekspresi di nukleus, HIF-1 α juga dapat diamati di membran sel dan sitoplasma. Namun, dalam penelitian ini protein HIF-1 α yang terekspresi ditemukan pada nukleus sel, hal ini menunjukkan bahwa HIF-1 α sudah bertranslokasi menuju nukleus sehingga tidak dapat di degradasi dan tidak berikatan lagi dengan pVHL maupun PHD1-3, melainkan berikatan dengan reseptor di dalam nukleus untuk membantu dalam mesuplai O_2 (Chen dan Lau, 2017). Ekspresi HIF-1 α diamati pada mikroskop Olympus CX23 dengan perbesaran 1000x pada 20x lapang pandang, dilakukan dengan metode penghitungan manual (Lee *et al.* 2014).

Infeksi malaria adalah salah satu penyebab terjadinya hipoksia intrauterin. Perlekatan sel darah yang terinfeksi *Plasmodium* antara yang terinfeksi dan tidak

terinfeksi, mengakibatkan perubahan morfologi sel darah dan mempunyai kecenderungan untuk melakukan perlekatan pada endotel pembuluh darah. Intervillus merupakan salah satu mikrovaskuler yang terdapat pada plasenta dan memegang peran penting untuk melakukan transport nutrisi antara ibu dan janin. Jika intervillus mengalami obstruksi, kondisi ini akan mengakibatkan disfungsi endotel dan memicu terjadinya hipoksia pada plasenta. Selain infeksi malaria beberapa penyebab lain dari hipoksia plasenta juga sering diakibatkan karena penyakit-penyakit lain dari ibu, anemia dan inflamasi kronik yang mengakibatkan sel jaringan pada plasenta kekurangan suplai O_2 , akibatnya HIF-1 α mengalami akumulasi dan peningkatan (Hutter *et al.* 2010).

Dari hasil analisis data kelompok BBLR dengan ibu yang terinfeksi dan tidak terinfeksi malaria adalah menunjukkan slide tidak ada perbedaan secara bermakna pada ekspresi HIF-1 α . Peningkatan ekspresi protein HIF-1 α pada kedua kelompok tersebut, dikarenakan protein ini mempunyai fungsi untuk regulasi homeostasis O_2 pada bayi dengan BBLR. Peningkatan ini disebabkan jaringan plasenta mengalami hipoksia dan HIF-1 α tidak terdegradasi.

Ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta kelompok BBLR pada ibu dengan infeksi malaria ditunjukkan warna coklat dengan intensitas warna derajat 3, ditemukan banyak pada nukleus. Sedangkan, ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta tidak terinfeksi malaria menunjukkan hasil yang sama seperti kelompok yang terinfeksi malaria. Persamaan hasil ekspresi HIF-1 α ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Pertama, kedua kelompok yang diteliti mempunyai kondisi sama yaitu BBLR. Kedua, *Plasmodium vivax* yang mempunyai patogenesis *rosetting* dan *adheren* mengakibatkan terobstruksinya mikrovaskuler. Peningkatan ekspresi HIF-1 α dapat dipengaruhi oleh kondisi patologis dan

fisiologis. Pada kondisi patologis seperti yang diklasifikasi oleh Kingdom dan Kaufmann (1997), terdiri dari hipoksia preplasental; hipoksia yang terjadi pada ibu dan bayi, yang disebabkan karena penyakit jantung pada ibu, uteroplasental; di mana oksigen yang disuplai dari ibu dalam jumlah yang normal tetapi sirkulasi pada uteroplasental terganggu seperti riwayat preeklamsia, dan hipoksia postplasental; hipoksia yang hanya terjadi pada janin. Sedangkan dalam kondisi fisiologis pada fase tertentu kehamilan normal ditemukan peningkatan HIF-1 α , kurang dari 10 minggu kehamilan, tekanan O₂ adalah 20 mmHg (setara dengan 2%-3% O₂), sementara setelah ruang intervillous terbuka (10-12 minggu), kadar O₂ meningkat menjadi 55 mmHg (8%–10% O₂) (Rodesch *et al.* 1992). Sehingga bukan semata-mata hanya faktor infeksi malaria yang dapat menyebabkan peningkatan HIF-1 α . Ketiga, pada penelitian yang sama dengan menggunakan sampel jaringan plasenta bayi BBLR di RSUD TC Hiller, Maumere, Kabupaten Sikka, Nusa Tenggara Timur yang dilakukan oleh Nabila (2018) menunjukkan bahwa didapatkan infeksi kronis yang dalam PCR terdeteksi tidak terinfeksi malaria (PCR -) tetapi dalam pemeriksaan histopatologi menggunakan *Hematoxyline Eosin* (HE) ditemukan hemozoin.

Penelitian ini mempunyai beberapa keterbatasan antara lain tidak dibedakannya antara infeksi malaria akut dan kronis, jumlah sampel yang terbatas, dan penyimpanan Bahan Biologis Tersimpan pada parafin blok melebihi batas standar yang ditentukan.

BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan dari hasil penelitian ini adalah

1. Terdapat peningkatan rata-rata ekspresi HIF-1 α jaringan plasenta bayi BBLR pada kehamilan dengan infeksi malaria terhadap rata-rata ekspresi HIF-1 α jaringan plasenta bayi BBLR pada kehamilan tidak terinfeksi malaria di RSUD TC Hiller, Maumere, Kabupaten Sikka, Nusa Tenggara Timur, yang diukur melalui SPSS didapatkan hasil 4.47 ± 3.26 dan 3.00 ± 1.65 , $p=0,173$.
2. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta BBLR pada kehamilan yang terinfeksi dan tidak terinfeksi *Plasmodium vivax* di RSUD TC Hiller, Maumere, Kabupaten Sikka, Nusa Tenggara Timur.

7.2 Saran

Penulis berharap akan adanya banyak penelitian yang berdasar pada penelitian ini, atau untuk menyempurnakan penelitian ini, beberapa saran dari penulis :

1. Perlu dilakukan lebih lanjut uji korelasi untuk mencari hubungan antara ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta bayi BBLR pada kehamilan terinfeksi malaria dan kehamilan tidak terinfeksi malaria.

2. Perlu dilakukan lebih lanjut untuk mencari faktor lain yang berpengaruh terhadap aktivasi ekspresi HIF-1 α pada jaringan plasenta bayi BBLR dengan ibu yang terinfeksi malaria dan tidak.



DAFTAR PUSTAKA

- Alberry M, Soothill P. 2007. Management of fetal growth restriction. *Arch Dis Chil Fet Neo*. 92:F62–F67. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17185432>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Autino B, Corbett Y, Castelli F, Taramelli D. 2012. Pathogenesis of Malaria in Tissues dan Blood. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 4(1):e2012061. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3499994/>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Bae S.H., Jeong J.W., Park J.A., Kim S.H., Bae M.K., Choi S.J., et al. 2004. Sumoylation increases HIF-1 α stability dan its transcriptional activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 324: 394-400. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15465032>, diakses pada tanggal 28 Juli 2018).
- Boeuf P, Tan A, Romagosa C, Radford J, Mwapasa V, Molyneux M.E, Meshnick S.R, Hunt N.H, dan Rogerson S.J. 2008. Placental Hypoxia during Placental Malaria. *J Inf Dis*. 197:757– 65. (doi:10.1086/526521, diakses pada tanggal 10 Januari 2019).
- Bridan V, Badaut C, Cot M. 2009. Placental malaria, maternal HIV infection dan infant morbidity. *Annals of Tropical Paediatrics*. 29, 71–83. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19460261>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Brodsky D, Christou H. 2003. Current concepts in intrauterine growth restriction. *J Intensive Care Med*. 19(6):307-19. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15523117>, diakses tanggal 28 November 2017).
- CDC. 2018. Biology Malaria. Global Health – Division of Parasitic Diseases dan Malaria (<https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html>, diakses pada tanggal 28 Oktober 2017).
- Chaikitgosiyaikul S, Rijken MJ, Muehlenbachs A, Lee SJ, Chaisri U, Viriyavejakul P, et al. 2014. A morphometric dan histological study of placental malaria shows significant changes to villous architecture in both *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* infection. *Malaria Journal*. 13(1), 4. (doi: 10.1186/1475-2875-13-4, diakses pada tanggal 2 januari 2019).
- Chen, C., dan Lou, T. 2017. Hypoxia inducible factors in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*. 8:46691-

46703. (<https://doi.org/10.18632/oncotarget.17358>, diakses pada tanggal 17 Agustus 2018).

- Chiavarina B, Whitaker-Menezes D, Migneco G, Martinez-Outschoorn UE, Pavlides S, Howell A, et al. 2010. HIF1-alpha functions as a tumor promoter in cancer associated fibroblasts, dan as a tumor suppressor in breast cancer cells: Autophagy drives compartment-specific oncogenesis. *Cell Cycle*. 1;9(17):3534-51. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20864819> diakses pada tanggal 10 Oktober 2018).
- Delves M, Plouffe D, Scheurer C, Meister S, Wittlin S, Winzeler E. A, Sinden R. E, Leroy D. 2012. The Activities of Current Antimalarial Drugs on the Life Cycle Stages of Plasmodium: A Comparative Study with Human dan Rodent Parasites. *PLOS Med*. 9(2)e1001169. (<https://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.1001169>, diakses pada tanggal 10 Oktober 2010)
- Demir R, Kayisli UA, Seval Y, Celik-Ozenci C, Korgun ET, Demir-Weusten AY, et al. 2004. Sequential expression of VEGF dan its receptors in human placental villi during very early pregnancy: differences between placental vasculogenesis dan angiogenesis. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15135240>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Desai M, ter Kuile FO, Nosten F, McGready R, Asamo K, Brabin B, Newman RD. 2007. Epidemiology dan Burden of Malaria in Pregnancy. *Lancet Infect Dis*. 7(2):93-104. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17251080>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Donnelly L, & Campling G. 2014. Functions of the placenta. *Anst Int Care Med*. 15(3)136–139. (<https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2014.01.004>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Eliana M Arango, Roshini Samuel, Olga M Agudelo, Jaime Carmona-Fonseca, Amdana Maestre, dan Stephanie K Yanow. Genotype comparison of Plasmodium vivax dan Plasmodium falciparum clones from pregnant dan non-pregnant populations in North-west Colombia. *Malar J*. 11: 392. (doi: 10.1186/1475-2875-11-392, diakses tanggal 10 Oktober 2018).
- Elkins J.M., Hewitson K.S., McNeill L.A., Seibel J.F., Schlemminger I., Pugh C.W., et al. 2003. Structure of factor-inhibiting. *J Biol Chem*. 278(3):1802-6. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12446723>, diakses pada tanggal 1 Desember 2018).
- Ellery PM, Cindrova-Davies T, Jauniaux E, Ferguson-Smith AC, Burton GJ. 2009. Evidence for transcriptional activity in the syncytiotrophoblast of the human placenta. 30(4):329-34.

- (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK53253/>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Eltzschig H.K, dan Carmeliet P. 2011. Hypoxia and inflammation. *N Engl J Med.* 364(7): 656–665. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3930928/pdf/nihms544226.pdf>, diakses pada tanggal 10 januari 2019)
- Elyazar IR, Gething PW, Patil AP, Rogayah H, Sariwati E, Palupi NW, et al. 2012. Plasmodium vivax malaria endemicity in Indonesia in 2010. *PLoS One.* 7(5):e37325. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5201218/pdf/tropmed-95-121.pdf>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Eriksson J.G, Kajantie E, Osmond C, Thornburg K, Barker D.J. 2010. Boys live dangerously in the womb. *Am J Hum Biol.* 22(3):330-5. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19844898>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Fairhurst R. M, dan Wellems T.E. 2015. Mdanell, Douglas, dan Bennett's Principles dan Practice of Infectious Disease 8(1) (<https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4801-3.00276-9>, diakses tanggal 2 Januari 2019)
- Foxler D.E., Bridge K.S., James V., Webb T.M., Mee M., Wong S.C., Feng Y., Constantin-Teodosiu D., Petursdottir T.E., Bjornsson J., Ingvarsson S., Ratcliffe P.J., Longmore G.D., Sharp T.V. 2018. The LIMD1 protein bridges an association between the prolyl hydroxylases dan VHL to repress HIF-1 activity. *Nat. Cell Biol.* 14:201-208. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22286099>, diakses pada tanggal 28 Agustus 2018).
- Fujii T, Nagamatsu T, Morita K, Schust D.J, Iriyama T, Komatsu A, Osuga Y dan Fujii Tomoyuki. 2017. Enhanced HIF2 α expression during human trophoblast differentiation into syncytiotrophoblast suppresses transcription of placental growth factor. *Sci rep.* 7:12455. (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5622029/pdf/41598_2017_Article_12685.pdf, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Genbacev O, Zhou Y, Ludlow JW, Fisher SJ. 1997. Regulation of human placental development by oxygen tension. *Sci.* 277:1669–1672. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9287221>, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Guyatt HL, Snow RW. 2001. The epidemiology dan burden of Plasmodium falciparum-related anemia among pregnant women in sub-Saharan Africa. *Am J Trop Med Hyg.* 64(1-2 Suppl):36-44. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11425176>, diakses tanggal 28 November 2017).

- Haind F. 2014. Parasitology Bloodstream Plasmodium vivax. *PathologyOutlines.com*. 2,225:374. (<http://www.pathologyoutlines.com/topic/parasitologymalariapvivax.html>, diakses pada tanggal 10 November 2017).
- Hay SI, Guerra CA, Gething PW, Patil AP, Tatem AJ, Noor AM, et al. 2009. A world malaria map: Plasmodium falciparum endemicity in 2007. *PLoS Med*. 24;6(3):e1000048. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19323591>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Hempel, C., Hoyer, N., Kildemoes, A., Jendresen, C. B., dan Kurtzhals, Jä., A. L. 2014. Systemic dan cerebral vascular endothelial growth factor levels increase in murine cerebral malaria along with increased calpain dan caspase activity dan can be reduced by erythropoietin treatment. *Frontiers in Immunology. Front immunol.* 5;291;1. (doi: 10.3389/fimmu.2014.00291, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Hogenesch JB, Chan WK, Jackiw VH, Brown RC, Gu YZ, Pray-Grant M, et al. 1997. Characterization of a subset of the basic-helix-loop-helix-PAS superfamily that interacts with components of the dioxin signaling pathway. *J. Biol. Chem.* 272 (13): 8581–93. (doi:10.1074/jbc.272.13.8581, diakses pada tanggal 10 Januari 2019).
- Hutter D, Kingdom J, Jaeggi E. 2010. Causes and mechanisms of intrauterine hypoxia dan its impact on the fetal cardiovascular system: a review. *Int J Pediatr.* 2010():401323. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2963133/>, diakses pada tanggal 10 januari 2019)
- Iyer NV, Kotch LE, Agani F, Leung SW, Laughner E, Wenger RH, Gassmann M, Gearhart JD, Lawler AM, Yu AY, Semenza GL. 1998. Cellular dan developmental control of O2 homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 alpha. *Genes Dev.* 12: 149-16212 (doi:10.1101/gad.12.2.149, diakses pada tanggal 10 Januari 2019).
- Kallio PJ, Pongratz I, Gradin K, McGuire J, dan Poellinger L. 1997. Activation of hypoxia-inducible factor 1alpha: posttranscriptional regulation dan conformational change by recruitment of the Arnt transcription factor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 94: 5667-5672. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9159130>, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Kanasaki K, Kalluri R. 2009. The biology of preeclampsia. *Kidney Int.* 76(8):831–837. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4313558/>, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Keman, Kusnarman. 2012. Fisiologi Plasenta. Malang, UB Press.

- Khan S, Katabuchi H, Araki M, Nishimura R, Okamura H. 2000. Human villous macrophage-conditioned media enhance human trophoblast growth dan differentiation in vitro. *Biol Reprod.* 62(4):1075-83. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10727280>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Kingdom J. C. P. dan Kaufmann P. 1997. Oxygen dan placental villous development: origins of fetal hypoxia. *Placenta.* 18(8):613–621. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2963133/pdf/IJPED2010-401323.pdf>, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Krishna U dan Bhalerao S. 2011. Placenta Insufficiency dan Fetal Growth Restriction. *J Obst Gyn Ind.* 61(5):505-511. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4303845/>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Lee JW, Bae SH, Jeong JW, Kim SH, Kim KW. 2014. Hypoxia-inducible factor (HIF-1) α : its protein stability dan biological function. *Exp Mol Med.* 36(1):1-12. (doi:10.1038/emm.2004, diakses 28 November 2017).
- Li Z, Wang D, Na X, Schoen SR, Messing EM, Wu G. 2003. The VHL protein recruits a novel KRAB-A domain protein to repress HIF-1 α transcriptional activity. *EMBO J.* 22(8):1857-67. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12682018>, diakses tanggal 28 November 2017)
- Longo S, Bollani L, Decembrino L, Di Comite A, Angelini M, Stronati M. 2013. Short-term dan long-term sequelae in intrauterine growth retardation (IUGR). *J Matern Fetal Neonatal Med.* 26(3):222-5. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23030765>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Masson N., Willam C., Maxwell P.H., Pugh C.W., Ratcliffe P.J. 2001. Independent function of two destruction domains in hypoxia-inducible factor- α chains activated by prolyl hydroxylation. *EMBO J.* 20:5197-5206. (melalui <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11566883>, diakses 20 Agustus 2018).
- Min J.-H., Yang H., Ivan M., Gertler F., Kaelin W.G. Jr., Pavletich N.P. 2002. Structure of an HIF-1 α -pVHL complex: hydroxyproline recognition in signaling. *Sci* 296:1886-1889. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12004076>, diakses pada tanggal 1 Desember 2018).
- Plitman M. R, Olsthoorn J, Charnock-Jones D.S, Burton G.J, Oyen M.L. 2016. Computational modeling of the structure-function relationship in human placental terminal villi. *J Biomech.* 8;49(16):3780-3787. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiomech.2016.10.001> 0021-9290/dan 2016, diakses tanggal 28 November 2017).

- Reid MD, Bagci P, Ohike N, et al. 2015. Calculation of the Ki67 index in pancreatic neuroendocrine tumors: a comparative analysis of four counting methodologies. *Mod Pathol.* 28(5):686–694. (<http://www.archivesofpathology.org/doi/pdf/10.5858/arpa.2017-0203-OA>, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Rijken MJ, McGready R, Boel ME, Poespoprodjo R, Singh N, Syafruddin D, et al. 2012. Malaria in pregnancy in the Asia-Pacific region. *Lancet Infect.* 12(1):75-88. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5793466/>, diakses pada tanggal 1 desember 2018).
- Riskesdas. 2013. Info DATIN (Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI) Situasi Malaria di Indonesia, 25 April Hari Malaria Sedunia. (<http://www.pusdatin.kemkes.go.id/download.php?file=download/pusdatin/infodatin/infodatin-malaria.pdf>, diakses 28 November 2017).
- Rodesch F, Simon P, Donner C, Jauniaux E. 1992. Oxygen measurements in endometrial dan trophoblastic tissues during early pregnancy. *Obstet Gynecol.* 80:283–285. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1635745>, diakses pada tanggal 11 Januari 2018).
- Saleem T, Sajjad N, Fatima S, Habib N, Ali SR, Qadir M. 2011. Intrauterine growth retardation--small events, big consequences. *Ital J Pediatr.* 7(37)41. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21899747>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Schantz-Dunn J, Nour N.M. 2009. Malaria dan Pregnancy: A Global Health Perspective. *Obstet Gynecol.* 2(3)186. (doi:10.3909/riog0091, diakses 28 November 2017).
- Schofield L dan Grau G. E. 2005. Immunological Processes In Malaria Pathogenesis. *Nat Rev Immunol.* 5(9):722-35. (<https://www.nature.com/articles/nri1686>, diakses pada tanggal 28 Oktober 2018).
- Semenza, G. L. 2009. Regulation of Oxygen Homeostasis by Hypoxia-Inducible Factor 1. *Physiol.* 24(2), 97–106. (<http://doi.org/10.1152/physiol.00045.2008>, diakses pada tanggal 29 November 2018).
- Shan B., Gerez J., Haedo M., Fuertes M., Theodoropoulou M., Buchfelder M., et al. 2012. RSUME is implicated in HIF-1-induced VEGF-A production in pituitary tumour cells. *Endocr Relat Cancer.* 19:13-27. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22009797>, diakses tanggal 1 Desember 2018).
- Sharma D, Farahbakhsh N, Shastri S, Sharma P. 2016. Intrauterine growth restriction—part 2. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016 Mar 15:1–12. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4946587/pdf/cmped-10-2016-067.pdf>, diakses pada tanggal 10 Januari 2019).

- Sherin U. Devaskar dan Alison Chu. 2016. Intrauterine Frowth Restriction: Hungry for answer. *Physiol.* 31(2):131-146. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4895444/> , diakses 28 November 2017).
- Sierra Filardi E, Vega MA, Sánchez Mateos P, Corbí AL, Puig Kröger A. 2010. Heme Oxygenase-1 expression in M-CSF-polarized M2 macrophages contributes to LPS-induced IL-10 release. *Immunobiol.* 215(9-10):788-95. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20580464>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Sims DE. 2000 Diversity within pericytes. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 27(10):842-6. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK53253/>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Skuli N, Monferran S, Delmas C, Lajoie-Mazenc I, Favre G, Toulas C, et al. 2006. Activation of RhoB by hypoxia controls hypoxia-inducible factor-1 α stabilization through glycogen synthase kinase-3 in U87 glioblastoma cells. *Cancer Res.* 66(1):482-9. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16397264> diakses tanggal 28 November 2017).
- Spinello A, Laura M, Anna L R, Laura G, Mario C. 2012. Severe Plasmodium vivax Malaria: Fact or Fiction?. *Clin Inf Dis.* 55(11):1581–1583. (<https://doi.org/10.1093/cid/cis709>, diakses pada tanggal 28 November 2018)
- Steketee RW, Nahlen BL, Parise ME, Menendez C. 2001. The burden of malaria in pregnancy in malaria-endemic areas. *Am J Trop Med Hyg.* 64:28–35. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11425175>, diakses pada tanggal 28 November 2017).
- Sullivan AD, Nyirenda T, Cullinan T, Taylor T, Harlow SD, James SA, et al. 1997. Malaria infection during pregnancy: intrauterine growth retardation dan preterm delivery in Malawi. *J Infect Dis.* 179(6):1580-3. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10228088>, diakses pada tanggal 28 November 2017).
- Sutter C.H., Laughner E., Semenza G.L. 2000. HIF-1 α protein expression is controlled by oxygen-regulated ubiquitination that is disrupted by deletions dan missense mutations. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97:4748–4753. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10758161>, diakses pada tanggal 28 November 2017).
- Takehiro Maki, Hiroaki Ikeda, Aki Kuroda, Noriaki Kyogoku , Yoshiyuki Yamamura, Yukiko Tabata, et al. 2016. Differential detection of cytoplasmic Wilms tumor 1 expression by immunohistochemistry, westrn blotting dan mRNA quantification. *Int J Onco.* 50(1):129-140. (<https://doi.org/10.3892/ijo.2016.3786>, diakses pada tanggal 11 januari 2019).

- Tazuke SI, Mazure NM, Sugawara J et al. 1998. Hypoxia stimulates insulin-like growth factor binding protein 1 (IGFBP-1) gene expression in HepG2 cells: a possible model for IGFBP-1 expression in fetal hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 95 10 188–10 193. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9707622>, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Uhlen Mathias, Lundberg Emma, Bergström Cecillia Lindskog, Ponten Fredrik, Nilsson Peter, Hober Sophia, et al. 2010. Human Protein Atlas. *Nat Biotechnol*. 28(12):1248-50. (<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000100644-HIF1A/tissue>, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Villar J, Altman DG, Purwar M, Noble JA, Knight HE, Ruyan P, Cheikh Ismail L, Barros FC, Lambert A, Papageorgiou AT, Carvalho M, Jaffer YA, Bertino E, Gravett MG, Bhutta ZA, Kennedy SH. 2013. International Fetal dan Newborn Growth Consortium for the 21st Century. *BJOG*. 120 (2)9-26. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23678873>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Volm M, Koomagi R, Mattern J. Prognostic value of vascular endothelial growth factor dan its receptor Flt-1 in squamous cell lung cancer. *Int J Cancer*. 74:64–8. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1731361/>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Walter PR, Garin Y, Blot P. 1982. Placental pathologic changes in malaria. A histologic dan ultrastructural study. *Am J Pathol*. 109:330–342. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6758604>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Wang Y dan Zhao S. 2010. Vascular Biology of the Placenta. Louisiana State University. *Morg Clay Lif Sci*. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21452443>, diakses pada tanggal 28 November 2017).
- Wei Lu, Shu-Jun Wang, Qi-De Lin. 2014. Study on the Expression of PHD dan HIF in Placentas from Normal Prenangcy Women anf Patient with Preeclamsia. *Int J Biol Sci*. 10(3):278-284. (doi:10.7150/ijbs.6375, diakses pada tanggal 10 Januari 2019).
- White NJ. 2008. Plasmodium knowlesi: the fifth human malaria parasite. *Clin Infect Dis*. 46(2):172-3. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18171246>, diakses tanggal 28 November 2017).
- WHO (World Health Organization). 2009. World Malaria Report 2009. (www.who.int/malaria/world_malaria_report_2009/en/, diakses 28 November 2017).

- WHO (World Health Organization). 2015. World Malaria Report 2015. (<https://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2015/report/en/>, diakses pada tanggal 28 November 2017).
- Witkin, JW. 2004. Formation and Role of Placenta. *Dept Ant Cell Biol.* 3.20-22;37-44,481-490. (<http://www.columbia.edu/itc/hs/medical/humandev/2004/Chapt-Placenta.pdf>, diakses pada tanggal 28 November 2018).
- Yasuo M., S. Mizuno. D Kraskauskas, H. J. Bogard, R. Natarajan, C. D. Cool, M. Zamora, N. F. Voelkel. Hypoxia inducible factor-1 α in human emphysema lung tissue. *Eur Res J.* 37: 775-783. (doi:10.1183/09031936.00022910, diakses pada tanggal 10 Januari 2019).





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
<http://www.fk.ub.ac.id> e-mail : kep.fk@ub.ac.id

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 307A / EC / KEPK / 11 / 2018

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Faktor Inflamasi dan *Angiogenesis* dalam Patomekanisme Pertumbuhan Janin Terhambat pada Kehamilan dengan Malaria dengan Bayi Berat Badan Lahir rendah dan Kecil Masa Kehamilan.

PENELITI UTAMA : dr. Nugrahanti Prasetyorini, Sp.OG(K)

ANGGOTA : Latania Naufa Arinugraha
Isnaini Yuliana Wardani
Hana' Putri Rahmansari
Nabila Erina Erwan

UNIT / LEMBAGA : Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya Malang.

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Biomedik, Parasitologi dan Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang,
Ketua

Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjid ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr(Hk)
NIPK. 20180246051611001

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol)

Lampiran 4

Tabel 5.1.3 Hasil 20 Lapang Pandang

Preparat	BBLR (gr)	Terinfeksi Malaria (M)/ Tanpa Terinfeksi Malaria (T)	Penghitungan (/lapang pandang)	Rata-rata (/lapang pandang)
3.1C	2250	Terinfeksi Malaria	83	4
4.1C	2300	Terinfeksi Malaria	80	4
9.2C	2300	Terinfeksi Malaria	169	9
12C	2450	Tanpa Terinfeksi Malaria	57	3
13C	2400	Tanpa Terinfeksi Malaria	20	1
15C	2300	Terinfeksi Malaria	83	4
16C	1700	Tanpa Terinfeksi Malaria	19	1
17C	2000	Tanpa Terinfeksi Malaria	33	2
18C	2000	Terinfeksi Malaria	95	5
19C	2300	Terinfeksi Malaria	168	8
20C	1900	Tanpa Terinfeksi Malaria	51	3
21C	2300	Tanpa Terinfeksi Malaria	30	2
22C	2300	Tanpa Terinfeksi Malaria	30	2
23C	1200	Terinfeksi Malaria	28	1
24C	1950	Tanpa Terinfeksi Malaria	89	5
25C	2300	Terinfeksi Malaria	235	12
26C	2300	Tanpa Terinfeksi Malaria	39	2
27C	2300	Terinfeksi Malaria	43	2
28C	2300	Terinfeksi Malaria	57	3
29C	2000	Terinfeksi Malaria	33	2
30C	2000	Tanpa Terinfeksi Malaria	82	4
31C	2450	Terinfeksi Malaria	40	2
32C	2300	Tanpa Terinfeksi Malaria	94	5
34C	1700	Tanpa Terinfeksi Malaria	126	6
35C	2100	Terinfeksi Malaria	29	2

Lampiran 5

Tests of Normality

Malaria		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
HIF	Terinfeksi	.248	13	.028	.846	13	.025
	Tidak terinfeksi	.228	12	.086	.905	12	.186
	Terinfeksi	.302	13	.002	.644	13	.000
BBLR	Tidak terinfeksi	.265	12	.020	.889	12	.115

a. Lilliefors Significance Correction

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means	
		F	Sig.	t	df
HIF	Equal variances assumed	3.306	.082	1.388	23
	Equal variances not assumed			1.422	18.009
BBLR	Equal variances assumed	.128	.723	.453	23
	Equal variances not assumed			.456	22.800

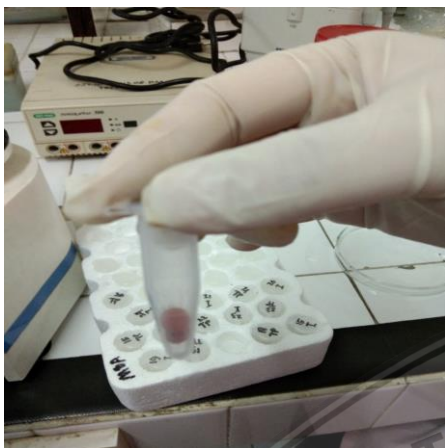
Independent Samples Test

		t-test for Equality of Means			
		Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference
					Lower
HIF	Equal variances assumed	.179	1.462	1.053	-.717
	Equal variances not assumed	.172	1.462	1.027	-.697
BBLR	Equal variances assumed	.655	53.205	117.454	-189.768
	Equal variances not assumed	.652	53.205	116.594	-188.106

Independent Samples Test

		t-test for Equality of Means
		95% Confidence Interval of the Difference
		Upper
HIF	Equal variances assumed	3.640
	Equal variances not assumed	3.620
BBLR	Equal variances assumed	296.178
	Equal variances not assumed	294.516

Lampiran 6



Persiapan untuk isolasi DNA



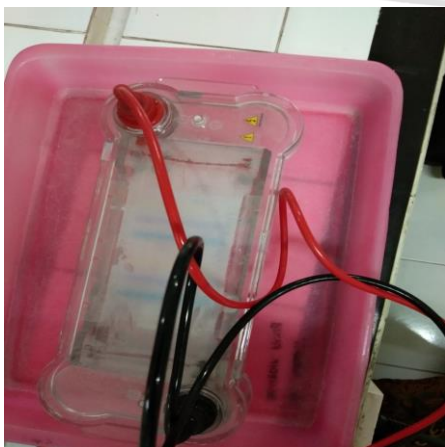
Proses Isolasi DNA



Hasil isolasi DNA



Proses sentrifugasi



Proses PCR



Hasil pembacaan PCR



Persiapan Preparat



Pemotongan Preparat



Slide kosong



Persiapan untuk pengecatan



Proses pengecatan



Hasil pengecatan

[illegible]

Lampiran 3

Kode sampel	Lapang Pandang																				Jumlah	rata-rata
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
3.1C	4	1	2	3	6	1	11	8	3	3	4	1	3	3	4	4	5	1	13	3	83	4.15
4.1C	1	3	5	4	0	1	1	5	10	9	5	10	1	5	10	1	1	4	3	1	80	4
9.2C	1	2	1	8	49	9	6	10	16	6	10	8	9	7	1	1	3	16	0	6	169	8.45
15C	3	2	1	2	2	6	9	14	3	1	1	5	1	1	1	4	2	1	17	7	83	4.15
18C	19	1	2	9	2	7	2	6	11	3	5	4	3	5	1	3	2	1	1	8	95	4.75
19C	9	6	1	18	8	14	7	6	6	12	4	15	15	8	20	1	5	4	4	5	168	8.4
23C	1	5	1	1	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	28	1.4
25C	18	9	8	4	8	9	8	5	15	11	10	14	6	6	13	18	8	14	38	13	235	11.75
27C	1	1	1	1	11	1	1	3	1	1	6	1	1	1	1	4	4	1	1	1	43	2.15
28C	1	1	1	3	0	1	0	2	1	1	1	1	3	1	3	6	1	1	6	23	57	2.85
29C	1	1	1	1	1	1	8	3	1	4	1	1	1	1	2	1	2	1	0	1	33	1.65
31C	2	2	1	1	1	3	1	2	1	1	5	1	1	1	4	3	0	2	3	5	40	2
35C	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	3	4	1	2	2	29	1.45
12C	1	3	1	2	2	7	3	1	1	4	3	2	7	1	2	3	1	11	1	1	57	2.85
13C	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	20	1
16C	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	2	1	1	1	1	19	0.95
17C	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	1	1	1	5	1	4	2	3	33	1.65
20C	7	14	4	1	1	3	2	4	2	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	51	2.55
21C	1	1	1	0	1	2	2	1	1	4	1	1	1	4	2	3	1	1	1	1	30	1.5
22C	1	1	0	1	6	1	1	1	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1	2	3	30	1.5
24C	8	4	2	1	1	16	4	9	5	7	5	4	1	1	1	0	2	5	6	7	89	4.45
30C	1	3	2	3	1	2	3	3	10	1	5	4	8	6	11	5	6	1	1	6	82	4.1
32C	1	1	12	11	1	2	12	5	7	5	2	17	4	2	1	1	1	1	1	7	94	4.7
34C	3	1	13	1	3	8	5	1	7	11	11	3	3	4	17	8	17	6	1	3	126	6.3
26C	1	4	1	1	3	2	1	3	1	4	1	1	1	4	2	1	5	1	1	1	39	1.95

DAFTAR PUSTAKA

- Alberry M, Soothill P. 2007. Management of fetal growth restriction. *Arch Dis Chil Fet Neo*. 92:F62–F67. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17185432>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Autino B, Corbett Y, Castelli F, Taramelli D. 2012. Pathogenesis of Malaria in Tissues dan Blood. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 4(1):e2012061. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3499994/>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Bae S.H., Jeong J.W., Park J.A., Kim S.H., Bae M.K., Choi S.J., et al. 2004. Sumoylation increases HIF-1 α stability dan its transcriptional activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 324: 394-400. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15465032>, diakses pada tanggal 28 Juli 2018).
- Boeuf P, Tan A, Romagosa C, Radford J, Mwapasa V, Molyneux M.E, Meshnick S.R, Hunt N.H, dan Rogerson S.J. 2008. Placental Hypoxia during Placental Malaria. *J Inf Dis*. 197:757– 65. (doi:10.1086/526521, diakses pada tanggal 10 Januari 2019).
- Bridan V, Badaut C, Cot M. 2009. Placental malaria, maternal HIV infection dan infant morbidity. *Annals of Tropical Paediatrics*. 29, 71–83. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19460261>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Brodsky D, Christou H. 2003. Current concepts in intrauterine growth restriction. *J Intensive Care Med*. 19(6):307-19. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15523117>, diakses tanggal 28 November 2017).
- CDC. 2018. Biology Malaria. Global Health – Division of Parasitic Diseases dan Malaria (<https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html>, diakses pada tanggal 28 Oktober 2017).
- Chaikitgosiyakul S, Rijken MJ, Muehlenbachs A, Lee SJ, Chaisri U, Viriyavejakul P, et al. 2014. A morphometric dan histological study of placental malaria shows significant changes to villous architecture in both *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* infection. *Malaria Journal*. 13(1), 4. (doi: 10.1186/1475-2875-13-4, diakses pada tanggal 2 januari 2019).
- Chen, C., dan Lou, T. 2017. Hypoxia inducible factors in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*. 8:46691-

46703. (<https://doi.org/10.18632/oncotarget.17358>, diakses pada tanggal 17 Agustus 2018).

- Chiavarina B, Whitaker-Menezes D, Migneco G, Martinez-Outschoorn UE, Pavlides S, Howell A, et al. 2010. HIF1-alpha functions as a tumor promoter in cancer associated fibroblasts, dan as a tumor suppressor in breast cancer cells: Autophagy drives compartment-specific oncogenesis. *Cell Cycle*. 1;9(17):3534-51. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20864819> diakses pada tanggal 10 Oktober 2018).
- Delves M, Plouffe D, Scheurer C, Meister S, Wittlin S, Winzeler E. A, Sinden R. E, Leroy D. 2012. The Activities of Current Antimalarial Drugs on the Life Cycle Stages of Plasmodium: A Comparative Study with Human dan Rodent Parasites. *PLOS Med*. 9(2)e1001169. (<https://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.1001169>, diakses pada tanggal 10 Oktober 2010)
- Demir R, Kayisli UA, Seval Y, Celik-Ozenci C, Korgun ET, Demir-Weusten AY, et al. 2004. Sequential expression of VEGF dan its receptors in human placental villi during very early pregnancy: differences between placental vasculogenesis dan angiogenesis. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15135240>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Desai M, ter Kuile FO, Nosten F, McGready R, Asamo K, Brabin B, Newman RD. 2007. Epidemiology dan Burden of Malaria in Pregnancy. *Lancet Infect Dis*. 7(2):93-104. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17251080>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Donnelly L, & Campling G. 2014. Functions of the placenta. *Anst Int Care Med*. 15(3)136–139. (<https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2014.01.004>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Eliana M Arango, Roshini Samuel, Olga M Agudelo, Jaime Carmona-Fonseca, Amdana Maestre, dan Stephanie K Yanow. Genotype comparison of Plasmodium vivax dan Plasmodium falciparum clones from pregnant dan non-pregnant populations in North-west Colombia. *Malar J*. 11: 392. (doi: 10.1186/1475-2875-11-392, diakses tanggal 10 Oktober 2018).
- Elkins J.M., Hewitson K.S., McNeill L.A., Seibel J.F., Schlemminger I., Pugh C.W., et al. 2003. Structure of factor-inhibiting. *J Biol Chem*. 278(3):1802-6. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12446723>, diakses pada tanggal 1 Desember 2018).
- Ellery PM, Cindrova-Davies T, Jauniaux E, Ferguson-Smith AC, Burton GJ. 2009. Evidence for transcriptional activity in the syncytiotrophoblast of the human placenta. 30(4):329-34.

- (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK53253/>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Eltzschig H.K, dan Carmeliet P. 2011. Hypoxia and inflammation. *N Engl J Med.* 364(7): 656–665. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3930928/pdf/nihms544226.pdf>, diakses pada tanggal 10 januari 2019)
- Elyazar IR, Gething PW, Patil AP, Rogayah H, Sariwati E, Palupi NW, et al. 2012. Plasmodium vivax malaria endemicity in Indonesia in 2010. *PLoS One.* 7(5):e37325. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5201218/pdf/tropmed-95-121.pdf>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Eriksson J.G, Kajantie E, Osmond C, Thornburg K, Barker D.J. 2010. Boys live dangerously in the womb. *Am J Hum Biol.* 22(3):330-5. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19844898>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Fairhurst R. M, dan Wellems T.E. 2015. Mdanell, Douglas, dan Bennett's Principles dan Practice of Infectious Disease 8(1) (<https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4801-3.00276-9>, diakses tanggal 2 Januari 2019)
- Foxler D.E., Bridge K.S., James V., Webb T.M., Mee M., Wong S.C., Feng Y., Constantin-Teodosiu D., Petursdottir T.E., Bjornsson J., Ingvarsson S., Ratcliffe P.J., Longmore G.D., Sharp T.V. 2018. The LIMD1 protein bridges an association between the prolyl hydroxylases dan VHL to repress HIF-1 activity. *Nat. Cell Biol.* 14:201-208. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22286099>, diakses pada tanggal 28 Agustus 2018).
- Fujii T, Nagamatsu T, Morita K, Schust D.J, Iriyama T, Komatsu A, Osuga Y dan Fujii Tomoyuki. 2017. Enhanced HIF2 α expression during human trophoblast differentiation into syncytiotrophoblast suppresses transcription of placental growth factor. *Sci rep.* 7:12455. (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5622029/pdf/41598_2017_Article_12685.pdf, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Genbacev O, Zhou Y, Ludlow JW, Fisher SJ. 1997. Regulation of human placental development by oxygen tension. *Sci.* 277:1669–1672. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9287221>, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Guyatt HL, Snow RW. 2001. The epidemiology dan burden of Plasmodium falciparum-related anemia among pregnant women in sub-Saharan Africa. *Am J Trop Med Hyg.* 64(1-2 Suppl):36-44. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11425176>, diakses tanggal 28 November 2017).

- Haind F. 2014. Parasitology Bloodstream Plasmodium vivax. *PathologyOutlines.com*. 2,225:374. (<http://www.pathologyoutlines.com/topic/parasitologymalariapvivax.html>, diakses pada tanggal 10 November 2017).
- Hay SI, Guerra CA, Gething PW, Patil AP, Tatem AJ, Noor AM, et al. 2009. A world malaria map: Plasmodium falciparum endemicity in 2007. *PLoS Med*. 24;6(3):e1000048. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19323591>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Hempel, C., Hoyer, N., Kildemoes, A., Jendresen, C. B., dan Kurtzhals, Jä., A. L. 2014. Systemic dan cerebral vascular endothelial growth factor levels increase in murine cerebral malaria along with increased calpain dan caspase activity dan can be reduced by erythropoietin treatment. *Frontiers in Immunology. Front immunol.* 5;291;1. (doi: 10.3389/fimmu.2014.00291, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Hogenesch JB, Chan WK, Jackiw VH, Brown RC, Gu YZ, Pray-Grant M, et al. 1997. Characterization of a subset of the basic-helix-loop-helix-PAS superfamily that interacts with components of the dioxin signaling pathway. *J. Biol. Chem.* 272 (13): 8581–93. (doi:10.1074/jbc.272.13.8581, diakses pada tanggal 10 Januari 2019).
- Hutter D, Kingdom J, Jaeggi E. 2010. Causes and mechanisms of intrauterine hypoxia dan its impact on the fetal cardiovascular system: a review. *Int J Pediatr.* 2010():401323. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2963133/>, diakses pada tanggal 10 januari 2019)
- Iyer NV, Kotch LE, Agani F, Leung SW, Laughner E, Wenger RH, Gassmann M, Gearhart JD, Lawler AM, Yu AY, Semenza GL. 1998. Cellular dan developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 alpha. *Genes Dev.* 12: 149-16212 (doi:10.1101/gad.12.2.149, diakses pada tanggal 10 Januari 2019).
- Kallio PJ, Pongratz I, Gradin K, McGuire J, dan Poellinger L. 1997. Activation of hypoxia-inducible factor 1alpha: posttranscriptional regulation dan conformational change by recruitment of the Arnt transcription factor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 94: 5667-5672. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9159130>, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Kanasaki K, Kalluri R. 2009. The biology of preeclampsia. *Kidney Int.* 76(8):831–837. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4313558/>, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Keman, Kusnarman. 2012. Fisiologi Plasenta. Malang, UB Press.

- Khan S, Katabuchi H, Araki M, Nishimura R, Okamura H. 2000. Human villous macrophage-conditioned media enhance human trophoblast growth dan differentiation in vitro. *Biol Reprod.* 62(4):1075-83. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10727280>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Kingdom J. C. P. dan Kaufmann P. 1997. Oxygen dan placental villous development: origins of fetal hypoxia. *Placenta.* 18(8):613–621. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2963133/pdf/IJPED2010-401323.pdf>, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Krishna U dan Bhalerao S. 2011. Placenta Insufficiency dan Fetal Growth Restriction. *J Obst Gyn Ind.* 61(5):505-511. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4303845/>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Lee JW, Bae SH, Jeong JW, Kim SH, Kim KW. 2014. Hypoxia-inducible factor (HIF-1) α : its protein stability dan biological function. *Exp Mol Med.* 36(1):1-12. (doi:10.1038/emm.2004, diakses 28 November 2017).
- Li Z, Wang D, Na X, Schoen SR, Messing EM, Wu G. 2003. The VHL protein recruits a novel KRAB-A domain protein to repress HIF-1 α transcriptional activity. *EMBO J.* 22(8):1857-67. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12682018>, diakses tanggal 28 November 2017)
- Longo S, Bollani L, Decembrino L, Di Comite A, Angelini M, Stronati M. 2013. Short-term dan long-term sequelae in intrauterine growth retardation (IUGR). *J Matern Fetal Neonatal Med.* 26(3):222-5. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23030765>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Masson N., Willam C., Maxwell P.H., Pugh C.W., Ratcliffe P.J. 2001. Independent function of two destruction domains in hypoxia-inducible factor- α chains activated by prolyl hydroxylation. *EMBO J.* 20:5197-5206. (melalui <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11566883>, diakses 20 Agustus 2018).
- Min J.-H., Yang H., Ivan M., Gertler F., Kaelin W.G. Jr., Pavletich N.P. 2002. Structure of an HIF-1 α -pVHL complex: hydroxyproline recognition in signaling. *Sci* 296:1886-1889. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12004076>, diakses pada tanggal 1 Desember 2018).
- Plitman M. R, Olsthoorn J, Charnock-Jones D.S, Burton G.J, Oyen M.L. 2016. Computational modeling of the structure-function relationship in human placental terminal villi. *J Biomech.* 8;49(16):3780-3787. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiomech.2016.10.001> 0021-9290/dan 2016, diakses tanggal 28 November 2017).

- Reid MD, Bagci P, Ohike N, et al. 2015. Calculation of the Ki67 index in pancreatic neuroendocrine tumors: a comparative analysis of four counting methodologies. *Mod Pathol.* 28(5):686–694. (<http://www.archivesofpathology.org/doi/pdf/10.5858/arpa.2017-0203-OA>, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Rijken MJ, McGready R, Boel ME, Poespoprodjo R, Singh N, Syafruddin D, et al. 2012. Malaria in pregnancy in the Asia-Pacific region. *Lancet Infect.* 12(1):75-88. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5793466/>, diakses pada tanggal 1 desember 2018).
- Riskesdas. 2013. Info DATIN (Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI) Situasi Malaria di Indonesia, 25 April Hari Malaria Sedunia. (<http://www.pusdatin.kemkes.go.id/download.php?file=download/pusdatin/infodatin/infodatin-malaria.pdf>, diakses 28 November 2017).
- Rodesch F, Simon P, Donner C, Jauniaux E. 1992. Oxygen measurements in endometrial dan trophoblastic tissues during early pregnancy. *Obstet Gynecol.* 80:283–285. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1635745>, diakses pada tanggal 11 Januari 2018).
- Saleem T, Sajjad N, Fatima S, Habib N, Ali SR, Qadir M. 2011. Intrauterine growth retardation--small events, big consequences. *Ital J Pediatr.* 7(37)41. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21899747>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Schantz-Dunn J, Nour N.M. 2009. Malaria dan Pregnancy: A Global Health Perspective. *Obstet Gynecol.* 2(3)186. (doi:10.3909/riog0091, diakses 28 November 2017).
- Schofield L dan Grau G. E. 2005. Immunological Processes In Malaria Pathogenesis. *Nat Rev Immunol.* 5(9):722-35. (<https://www.nature.com/articles/nri1686>, diakses pada tanggal 28 Oktober 2018).
- Semenza, G. L. 2009. Regulation of Oxygen Homeostasis by Hypoxia-Inducible Factor 1. *Physiol.* 24(2), 97–106. (<http://doi.org/10.1152/physiol.00045.2008>, diakses pada tanggal 29 November 2018).
- Shan B., Gerez J., Haedo M., Fuertes M., Theodoropoulou M., Buchfelder M., et al. 2012. RSUME is implicated in HIF-1-induced VEGF-A production in pituitary tumour cells. *Endocr Relat Cancer.* 19:13-27. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22009797>, diakses tanggal 1 Desember 2018).
- Sharma D, Farahbakhsh N, Shastri S, Sharma P. 2016. Intrauterine growth restriction—part 2. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016 Mar 15:1–12. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4946587/pdf/cmped-10-2016-067.pdf>, diakses pada tanggal 10 Januari 2019).

- Sherin U. Devaskar dan Alison Chu. 2016. Intrauterine Frowth Restriction: Hungry for answer. *Physiol.* 31(2):131-146. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4895444/> , diakses 28 November 2017).
- Sierra Filardi E, Vega MA, Sánchez Mateos P, Corbí AL, Puig Kröger A. 2010. Heme Oxygenase-1 expression in M-CSF-polarized M2 macrophages contributes to LPS-induced IL-10 release. *Immunobiol.* 215(9-10):788-95. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20580464>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Sims DE. 2000 Diversity within pericytes. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 27(10):842-6. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK53253/>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Skuli N, Monferran S, Delmas C, Lajoie-Mazenc I, Favre G, Toulas C, et al. 2006. Activation of RhoB by hypoxia controls hypoxia-inducible factor-1 α stabilization through glycogen synthase kinase-3 in U87 glioblastoma cells. *Cancer Res.* 66(1):482-9. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16397264> diakses tanggal 28 November 2017).
- Spinello A, Laura M, Anna L R, Laura G, Mario C. 2012. Severe Plasmodium vivax Malaria: Fact or Fiction?. *Clin Inf Dis.* 55(11):1581–1583. (<https://doi.org/10.1093/cid/cis709>, diakses pada tanggal 28 November 2018)
- Steketee RW, Nahlen BL, Parise ME, Menendez C. 2001. The burden of malaria in pregnancy in malaria-endemic areas. *Am J Trop Med Hyg.* 64:28–35. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11425175>, diakses pada tanggal 28 November 2017).
- Sullivan AD, Nyirenda T, Cullinan T, Taylor T, Harlow SD, James SA, et al. 1997. Malaria infection during pregnancy: intrauterine growth retardation dan preterm delivery in Malawi. *J Infect Dis.* 179(6):1580-3. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10228088>, diakses pada tanggal 28 November 2017).
- Sutter C.H., Laughner E., Semenza G.L. 2000. HIF-1 α protein expression is controlled by oxygen-regulated ubiquitination that is disrupted by deletions dan missense mutations. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97:4748–4753. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10758161>, diakses pada tanggal 28 November 2017).
- Takehiro Maki, Hiroaki Ikeda, Aki Kuroda, Noriaki Kyogoku , Yoshiyuki Yamamura, Yukiko Tabata, et al. 2016. Differential detection of cytoplasmic Wilms tumor 1 expression by immunohistochemistry, westrn blotting dan mRNA quantification. *Int J Onco.* 50(1):129-140. (<https://doi.org/10.3892/ijo.2016.3786>, diakses pada tanggal 11 januari 2019).

- Tazuke SI, Mazure NM, Sugawara J et al. 1998. Hypoxia stimulates insulin-like growth factor binding protein 1 (IGFBP-1) gene expression in HepG2 cells: a possible model for IGFBP-1 expression in fetal hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 95 10 188–10 193. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9707622>, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Uhlen Mathias, Lundberg Emma, Bergström Cecillia Lindskog, Ponten Fredrik, Nilsson Peter, Hober Sophia, et al. 2010. Human Protein Atlas. *Nat Biotechnol*. 28(12):1248-50. (<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000100644-HIF1A/tissue>, diakses pada tanggal 11 Januari 2019).
- Villar J, Altman DG, Purwar M, Noble JA, Knight HE, Ruyan P, Cheikh Ismail L, Barros FC, Lambert A, Papageorgiou AT, Carvalho M, Jaffer YA, Bertino E, Gravett MG, Bhutta ZA, Kennedy SH. 2013. International Fetal dan Newborn Growth Consortium for the 21st Century. *BJOG*. 120 (2)9-26. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23678873>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Volm M, Koomagi R, Mattern J. Prognostic value of vascular endothelial growth factor dan its receptor Flt-1 in squamous cell lung cancer. *Int J Cancer*. 74:64–8. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1731361/>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Walter PR, Garin Y, Blot P. 1982. Placental pathologic changes in malaria. A histologic dan ultrastructural study. *Am J Pathol*. 109:330–342. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6758604>, diakses tanggal 28 November 2017).
- Wang Y dan Zhao S. 2010. Vascular Biology of the Placenta. Louisiana State University. *Morg Clay Lif Sci*. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21452443>, diakses pada tanggal 28 November 2017).
- Wei Lu, Shu-Jun Wang, Qi-De Lin. 2014. Study on the Expression of PHD dan HIF in Placentas from Normal Prenangcy Women anf Patient with Preeclamsia. *Int J Biol Sci*. 10(3):278-284. (doi:10.7150/ijbs.6375, diakses pada tanggal 10 Januari 2019).
- White NJ. 2008. Plasmodium knowlesi: the fifth human malaria parasite. *Clin Infect Dis*. 46(2):172-3. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18171246>, diakses tanggal 28 November 2017).
- WHO (World Health Organization). 2009. World Malaria Report 2009. (www.who.int/malaria/world_malaria_report_2009/en/, diakses 28 November 2017).

- WHO (World Health Organization). 2015. World Malaria Report 2015. (<https://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2015/report/en/>, diakses pada tanggal 28 November 2017).
- Witkin, JW. 2004. Formation and Role of Placenta. *Dept Ant Cell Biol.* 3.20-22;37-44,481-490. (<http://www.columbia.edu/itc/hs/medical/humandev/2004/Chapt-Placenta.pdf>, diakses pada tanggal 28 November 2018).
- Yasuo M., S. Mizuno. D Kraskauskas, H. J. Bogard, R. Natarajan, C. D. Cool, M. Zamora, N. F. Voelkel. Hypoxia inducible factor-1 α in human emphysema lung tissue. *Eur Res J.* 37: 775-783. (doi:10.1183/09031936.00022910, diakses pada tanggal 10 Januari 2019).

